ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

VESTNIK TRANSPLANTOLOGII I ISKUSSTVENNYKH ORGANOV

RUSSIAN JOURNAL OF TRANSPLANTOLOGY AND ARTIFICIAL ORGANS

УЧРЕДИТЕЛЬ: ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ «РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

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

2026. Том XXVIII. № 2

2026. Vol. XXVIII. № 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

А.В. Васильев (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. б. н., профессор

Д.А. Гранов (Санкт-Петербург, Россия) – академик РАН, д. м. н., профессор

С.И. Исмаилов (Ташкент, Республика Узбекистан) – д. м. н., профессор

А.В. Колсанов (Самара, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор

Б.Н. Котив (Санкт-Петербург, Россия) – д. м. н., профессор

Ю.П. Островский (Минск, Республика Беларусь) – академик НАНБ, д. м. н., профессор

Е.Н. Паровичникова (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор

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

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

О.О. Руммо (Минск, Республика Беларусь) – академик НАНБ, д. м. н., профессор

В.И. Стародубов (Москва, Россия) – академик РАН, 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

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

К.В. Шаталов (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

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

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

EDITORIAL COUNCIL

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

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

D.A. Granov (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

S.I. Ismailov (Tashkent, Uzbekistan) – MD, PhD, professor

A.V. Kolsanov (Samara, Russia) – MD, PhD, corresponding member of Russian Academy of Sciences

B.N. Kotiv (Saint Petersburg, Russia) – MD, PhD, professor

Yu.P. Ostrovsky (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor, member of National Academy of Sciences of Belarus

E.N. Parovichnikova (Moscow, Russia) – MD, PhD, corresponding member of Russian Academy of Sciences

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

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

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

V.I. Starodubov (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, member of Russian Academy of Sciences

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

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

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

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

K.V. Shatalov (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

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

Ю.Б. Басок (Москва, Россия) – д. б. н. *(редактор раздела «Регенеративная медицина и клеточные технологии»)*

В.К. Богданов (Москва, Россия) – к. м. н. (*редактор раздела «Экспериментальные исследования»*)

С.А. Борзенок (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

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

Д.А. Великий (Москва, Россия) – д. м. н.

Ш.Р. Галеев (Москва, Россия) – д. м. н.

Н.В. Грудинин (Москва, Россия) – к. м. н.

Zh. Guo (Гуанчжоу, Гуандун, Китай) – д. м. н.

В.М. Захаревич (Москва, Россия) – д. м. н.

О.Н. Котенко (Москва, Россия) – д. м. н.

M. Malagò (Эр-Рияд, Королевство Саудовская Аравия) – д. м. н., профессор

П.И. Макаревич (Москва, Россия) – д. 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»)*

А.Р. Монахов (Москва, Россия) – к. м. н.

И.В. Пашков (Москва, Россия) – к. м. н.

Я.Л. Поз (Москва, Россия) – к. м. н. *(редактор раздела «Заместительная почечная терапия»)*

Т.А. Халилулин (Москва, Россия) – д. м. н.

С.М. Хомяков (Москва, Россия) – к. м. н.

О.М. Цирульникова (Москва, Россия) – д. м. н., профессор *(редактор раздела «Клиническая трансплантология»)*

Н.В. Чеботарева (Москва, Россия) – д. м. н., профессор

М.Ю. Шагидулин (Москва, Россия) – д. м. н.

А.О. Шевченко (Москва, Россия) – член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор *(редактор раздела «Трансплантация сердца и вспомогательное кровообращение»)*

А.Е. Щерба (Минск, Республика Беларусь) – д. м. н., профессор

EDITORIAL BOARD

Yu.B. Basok (Moscow, Russia) – PhD *(editor of the section «Regenerative medicine and cellular technology»)*

V.K. Bogdanov (Moscow, Russia) – MD, PhD *(editor of the section «Experimental research»)*

C.A. Borzenok (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

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

D.A. Velikiy (Moscow, Russia) – MD, PhD

Sh.R. Galeev (Moscow, Russia) – MD, PhD

N.V. Grudinin (Moscow, Russia) – MD, PhD

Zh. Guo (Guangzhou, Guangdong, China) – MD, PhD

V.M. Zakharevich (Moscow, Russia) – MD, PhD

O.N. Kotenko (Moscow, Russia) – MD, PhD

M. Malagò (Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia) – MD, PhD, professor

P.I. Makarevich (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»)*

A.R. Monakhov (Moscow, Russia) – MD, PhD

I.V. Pashkov (Moscow, Russia) – MD, PhD

I.L. Poz (Moscow, Russia), MD, PhD *(editor of the section «Renal replacement therapy»)*

T.A. Khalilulin (Moscow, Russia) – MD, PhD

S.M. Khomyakov (Moscow, Russia) – MD, PhD

O.M. Tsirulnikova (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor *(editor of the section «Clinical transplantology»)*

N.V. Chebotareva (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor

M.Yu. Shagidulin (Moscow, Russia) – MD, PhD

A.O. Shevchenko (Moscow, Russia) – MD, PhD, professor, corresponding member of Russian Academy of Sciences *(editor of the section «Heart transplantation and assisted circulation»)*

A.E. Shcherba (Minsk, Belarus) – MD, PhD, professor

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

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

Журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» 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

«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

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

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

ISSN 1995-1191

Адрес для корреспонденции:

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

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Генетические маркеры в клинической трансплантологии: векторы исследований и ближайшие перспективы
С.В. Готье

КЛИНИЧЕСКАЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ

Outcomes of liver transplantation in incidentally diagnosed combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma: A 25-year single-center matched cohort study
A. González De Godos, M. Bailón Cuadrado, P.L. Rodríguez Vielba, P. Pinto Fuentes, D. Pacheco Sánchez

Течение HCV-ассоциированного цирроза печени после элиминации вируса у пациентов, ожидающих трансплантацию
В.Л. Коробка, О.М. Цирульникова, Е.С. Пак, В.Д. Пасечников, Р.В. Коробка, М.Ю. Малеванный, Д.В. Пасечников, П.С. Опря

Эпидемиология злокачественных новообразований у реципиентов почечного трансплантата (обзор литературы)
Р.Н. Трушкин, А.А. Соколов, С.А. Соколов, Т.К. Исаев, А.М. Исаева

Слив-резекция желудка при морбидном ожирении после трансплантации печени
С.Е. Григорьев, М.О. Мовсисян, А.В. Новожилов, А.М. Манвелян

Трансплантация почки от родственного донора пациенту с синдромом Барде–Бидля
Я.Г. Мойсюк, В.М. Магилевец, Е.Г. Куликова, М.В. Магилевец, С.И. Голяна, В.Е. Басков, В.М. Кенис

Новая модель подбора пары «донор–реципиент» с учетом индивидуальных характеристик и «баланса рисков» при трансплантации почки
А.В. Шабунин, П.А. Дроздов, М.Г. Минина, И.А. Милосердов, Е.В. Шутов, И.В. Нестеренко, С.А. Астапович, Д.А. Макеев, Д.А. Соломатин, И.И. Курбанов, А.И. Юрик

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА И ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ

Клинический случай экстренной трансплантации сердца у пациентки с острым коронарным синдромом в результате связанной с беременностью спонтанной диссекции коронарных артерий
Т.А. Халилулин, В.М. Захаревич, К.С. Кирьяков, А.А. Сухачев, К.С. Филиппов, А.И. Симакова, Ш.Ф. Файзуллоев, Р.А. Якубов

Васкулопатия трансплантированного сердца по данным оптической когерентной томографии
Г.А. Тетерин, Н.А. Кочергин

Гемолизные исследования малогабаритного осевого насоса для имплантации пациентам с малыми антропометрическими показателями
А.С. Бучнев, А.П. Кулешов, Н.В. Васильев, В.А. Еленкин, Н.В. Грудинин

CONTENTS

EDITORIAL

6 Emerging genetic markers in clinical transplantation: current research and future directions
S.V. Gautier

CLINICAL TRANSPLANTOLOGY

8 Outcomes of liver transplantation in incidentally diagnosed combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma: A 25-year single-center matched cohort study
A. González De Godos, M. Bailón Cuadrado, P.L. Rodríguez Vielba, P. Pinto Fuentes, D. Pacheco Sánchez

19 Clinical course of HCV-associated liver cirrhosis after viral eradication in transplant candidates
V.L. Korobka, O.M. Tsirulnikova, E.S. Pak, V.D. Pasechnikov, R.V. Korobka, M.Yu. Malevanny, D.V. Pasechnikov, P.S. Oprya

31 Epidemiology of malignant tumors in kidney transplant recipients (a literature review)
R.N. Trushkin, A.A. Sokolov, S.A. Sokolov, T.K. Isaev, A.M. Isaeva

39 Sleeve gastrectomy in a patient with morbid obesity following liver transplantation
S.E. Grigoriev, M.O. Movsisyan, A.V. Novozhilov, A.M. Manvelyan

46 Living-related kidney transplantation in a patient with Bardet–Biedl syndrome
Ya.G. Moisyuk, V.M. Magilevets, E.G. Kulikova, M.V. Magilevets, S.I. Golyana, V.E. Baskov, V.M. Kenis

52 A new risk-balanced donor–recipient matching model incorporating individual characteristics in kidney transplantation
A.V. Shabunin, P.A. Drozdov, M.G. Minina, I.A. Miloserdov, E.V. Shutov, I.V. Nesterenko, S.A. Astapovich, D.A. Makeev, D.A. Solomatin, I.I. Kurbanov, A.I. Yurik

HEART TRANSPLANTATION AND ASSISTED CIRCULATION

62 Emergency heart transplantation in a female patient with acute coronary syndrome caused by pregnancy-associated spontaneous coronary artery dissection: a clinical case
T.A. Khalilulin, V.M. Zakharevich, K.S. Kiryakov, A.A. Sukhachev, K.S. Filippov, A.I. Simakova, Sh.F. Fayzulloyev, R.A. Yakubov

68 Diagnosis of cardiac allograft vasculopathy using optical coherence tomography
G.A. Teterin, N.A. Kochergin

76 Hemolysis testing of a small-sized axial flow pump for implantation in patients with low anthropometric parameters
A.S. Buchnev, A.P. Kuleshov, N.V. Vasiliev, V.A. Elenkin, N.V. Grudinin

РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Анализ особенностей наноструктуры миоцитов скелетной мышечной ткани методом сканирующей зондовой нанотомографии
А.Е. Ефимов, Т.К. Миленин, Е.И. Подболотова, Н.В. Грудинин, О.И. Агапова, И.И. Агапов

Т-лимфоцитарный контроль ангиогенеза (обзор литературы)
Н.В. Тишевская

Биологическая безопасность и эффективность биополимерного гомогенного многокомпонентного гидрогелевого миметика внеклеточного матрикса
Р.Р. Абсалямова, Н.В. Перова, Е.В. Арзуманянц, С.В. Курсаков, А.П. Малкова, А.С. Пономарева, В.И. Севастьянов

Наноструктурный анализ фибробластов мыши 3Т3, культивированных на тканевых скаффолдах на основе натурального шелка в условиях *in vitro*
А.Е. Ефимов, Е.И. Подболотова, О. Доси, О.И. Агапова, И.И. Агапов

Влияние аллогенного и ксеногенного биоматериалов на морфофункциональный профиль макрофагов *in vitro* и *in vivo*
В.Н. Павлов, А.И. Лебедева, К.В. Данилко, О.Р. Шангина

Перспективы лечения острой и хронической почечной недостаточности с использованием стволовых клеток и «клеточной терапии без клеток»
В.И. Кирпатовский, М.Л. Благонравов, А.В. Сивков, Ж.В. Комарова, Е.В. Фролова

Сравнение эффективности применения интактных и апоптотических клеток костного мозга на разных стадиях прогрессирующего развития сахарного диабета 2-го типа
А.О. Никольская, Н.А. Онищенко, Е.А. Волкова, О.И. Степанова, Н.В. Баранова, А.С. Пономарева, Р.А. Клесов, Х.Х. Семенов, Н.П. Можейко, М.Ю. Шагидулин, Ю.Б. Басок

Сравнительное исследование адгезии и пролиферации фибробластов линии NIH 3T3 на покрытиях из фиброина домашнего и дикого шелка и их композитах с хитозаном
О. Доси, Е.И. Подболотова, О.И. Агапова, А.Е. Ефимов, И.И. Агапов

Современные материалы для замещения дермы кожи: принципы получения и современные бесклеточные продукты на их основе
Е.В. Сытина, А.А. Алексеев, А.А. Пантелеев

Перспективы использования аллогенных бесклеточных тканеинженерных продуктов для коррекции постишемического ремоделирования миокарда
С.А. Афанасьев, Б.А. Закопайко, Д.С. Кондратьева, Д.А. Земляной, Д.В. Рагузина, С.В. Попов

REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES

83 Nanostructural organization of skeletal muscle myocytes revealed by scanning probe nanotomography
A.E. Efimov, T.K. Milenin, E.I. Podbolotova, N.V. Grudinin, O.I. Agapova, I.I. Agapov

94 T cells as regulators of angiogenesis (a literature review)
N.V. Tishevskaya

104 Biological safety and therapeutic efficacy of a biopolymer-based multicomponent hydrogel mimicking the extracellular matrix
R.R. Absalyamova, N.V. Perova, E.V. Arzumanyants, S.V. Kursakov, A.P. Malkova, A.S. Ponomareva, V.I. Sevastianov

117 Nanostructural analysis of 3T3 mouse fibroblasts cultured on natural silk-based tissue scaffolds *in vitro*
A.E. Efimov, E.I. Podbolotova, O. Dosi, O.I. Agapova, I.I. Agapov

128 Effects of allogeneic and xenogeneic biomaterials on macrophage morphology and function *in vitro* and *in vivo*
V.N. Pavlov, A.I. Lebedeva, K.V. Danilko, O.R. Shangina

140 Therapeutic potential of stem cell and cell-free therapies for acute and chronic kidney failure
V.I. Kirpatovskiy, M.L. Blagonravov, A.V. Sivkov, Zh.V. Komarova, E.V. Frolova

152 Comparative efficacy of intact and apoptotic bone marrow cells at different stages of type 2 diabetes progression
A.O. Nikolskaya, N.A. Onishchenko, E.A. Volkova, O.I. Stepanova, N.V. Baranova, A.S. Ponomareva, R.A. Kleosov, Kh.Kh. Semenov, N.P. Mozheiko, M.Yu. Shagidulin, Yu.B. Basok

163 A comparative study of NIH 3T3 fibroblast adhesion and proliferation on coatings of domestic and wild silk fibroin and their chitosan composites
O. Dosi, E.I. Podbolotova, O.I. Agapova, A.E. Efimov, I.I. Agapov

173 Modern materials for dermal skin substitute: principles of production and modern acellular products based on them
E.V. Sytina, A.A. Alekseev, A.A. Panteleyev

188 Prospects for allogeneic acellular tissue-engineered products in the management of post-ischemic myocardial remodeling
S.A. Afanasiev, B.A. Zakopayko, D.S. Kondratieva, D.A. Zemlyanoy, D.V. Raguzina, S.V. Popov

ТРАНСПЛАНТОМИКА

Лабораторные маркеры, коррелирующие с концентрацией такролимуса, у реципиентов почечного трансплантата
С.Л. Зыблев, А.Е. Силин, С.В. Зыблева, В.Н. Мартинков, А.А. Силина, Б.О. Кабешев, А.В. Величко, А.С. Князюк, З.А. Дундаров

Влияние полиморфизма гена CYP3A5 на фармакокинетику такролимуса у реципиентов трансплантированного сердца
О.Е. Гичкун Эрсин, Р.М. Курабекова, М.И. Ильчук, А.О. Шевченко, Н.Н. Колоскова, О.П. Шевченко

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гемодинамическая активация фактора Виллебранда: экспериментальное исследование для прогнозирования тромбообразования медицинских изделий, функционирующих в кровотоке
Д.Н. Шилкин, Р.Р. Салохединова, А.С. Бучнев, В.А. Еленкин

Результаты экспериментального применения аллогенных и ксеногенных биоматериалов для регенерации циркулярного дефекта кишки
И.М. Насибуллин, Р.Р. Хасанов, А.И. Лебедева, О.Р. Шангина, В.Н. Павлов, Д.Е. Халилов

Эволюция моделей в урологической хирургии и трансплантологии: от лабораторных животных до искусственного интеллекта
С.В. Попов, Р.Г. Гусейнов, К.И. Стосман, К.В. Сивак, Т.Н. Саватеева-Любимова, Е.А. Малышев, А.Х. Бештоев, Т.А. Лелявина

ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ПОЧЕЧНАЯ ТЕРАПИЯ

Динамика сосудистой кальцификации у пациентов на заместительной почечной терапии после паратиреоидэктомии: пилотное исследование
Е.В. Паршина, А.Д. Толкач, Т.С. Придвижкина, К.Ю. Новокшонов, Р.А. Черников, А.Б. Зулькарнаев

ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ

Развитие программы трансплантации почки в Узбекистане: анализ и перспективы многолетней хирургической активности
С.И. Исмаилов, Ф.Ш. Бахритдинов, А.С. Суюмов, З.У. Абдугафуров

ЮБИЛЕЙ

Поздравляем Вячеслава Леонидовича Коробку с юбилеем

TRANSPLANTOMICS

202 Laboratory markers associated with tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients
S.L. Zyblev, A.E. Silin, S.V. Zybleva, V.N. Martinkov, A.A. Silina, B.O. Kabeshev, A.V. Velichko, A.S. Knyazyuk, Z.A. Dundarov

208 The effect of CYP3A5 gene polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus in heart transplant recipients
O.E. Gichkun Ersin. R.M. Kurabekova, M.I. Ilchuk, A.O. Shevchenko, N.N. Koloskova, O.P. Shevchenko

EXPERIMENTAL RESEARCH

218 Hemodynamic activation of von Willebrand factor: an experimental study for predicting thrombus formation in blood-contacting medical devices
D.N. Shilkin, R.R. Salokhedinova, A.S. Buchnev, V.A. Elenkin

227 Experimental evaluation of allogeneic and xenogeneic biomaterials for regeneration of circular intestinal defects
I.M. Nasibullin, R.R. Khasanov, A.I. Lebedeva, O.R. Shangina, V.N. Pavlov, D.E. Khalilov

238 Evolution of models in urological surgery and transplantology: from laboratory animals to artificial intelligence
S.V. Popov, R.G. Huseynov, K.I. Stosman, K.V. Sivak, T.N. Savateeva-Lyubimova, E.A. Malyshev, A.Kh. Beshtoev, T.A. Lelyavina

RENAL REPLACEMENT THERAPY

250 Vascular calcification progression after parathyroidectomy in patients on renal replacement therapy: a pilot study
E.V. Parshina, A.D. Tolkach, T.S. Pridvizhkina, K.Yu. Novokshonov, R.A. Chernikov, A.B. Zulkarnaev

ORGANIZATION OF TRANSPLANT CARE

263 Development of the kidney transplant program in Uzbekistan: a multi-year analysis of surgical activity and future perspectives
S.I. Ismailov, F.Sh. Bakhritdinov, A.S. Suyumov, Z.U. Abdugafurov

ANNIVERSARY

273 Congratulations on Anniversary Vyacheslav Leonidovich Korobka

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ: ВЕКТОРЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И БЛИЖАЙШИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ

Глубокоуважаемые коллеги!



Появление и внедрение геномных и постгеномных технологий открыло дополнительные возможности в диагностике и лечении сердечно-сосудистых, онкологических и других тяжелых заболеваний. В последние годы в трансплантологии актуальное научное и практическое значение приобретает разработка подходов к пролонгированию эффективной функции трансплантата на основе модуляции экспрессии генов, выявления генетических маркеров, ассоциированных с развитием критической органной дисфункции, риском отторжения трансплантата.

Сформулированы приоритетные направления исследований, результаты которых послужат основой создания диагностических технологий и персонализации иммуносупрессии.

Установлено, что генетические факторы оказывают значительное влияние на индивидуальную потребность в назначении дозы иммуносупрессанта, необходимой для достижения терапевтического эффекта. Имеются доказательства влияния генетических факторов на фармакокинетику такролимуса: полиморфизмы генов TGFB1 и цитохрома P450 связаны с назначаемой дозой и остаточной концентрацией такролимуса в крови реципиентов солидных органов.

Отсутствие на российском рынке эффективных диагностических и прогностических панелей и существенный накопленный опыт в области поиска биомаркеров патологии трансплантированных органов открывают возможности для создания отечественных тест-систем, пригодных по эффективности, воспроизводимости и доступности к внедрению в клиническую практику трансплантологических центров РФ.

EMERGING GENETIC MARKERS IN CLINICAL TRANSPLANTATION: CURRENT RESEARCH AND FUTURE DIRECTIONS

Dear colleagues,

The emergence and integration of genomic and post-genomic technologies have created new opportunities for the diagnosis and treatment of cardiovascular, oncological, and other serious diseases. In recent years, significant scientific and practical attention in transplantology has been directed toward developing approaches to prolong the functional lifespan of transplanted organs through modulation of gene expression and identification of genetic markers associated with critical graft dysfunction and the risk of transplant rejection.

Priority research areas have been identified, and their findings are expected to lay the groundwork for the development of advanced diagnostic technologies and the personalization of immunosuppressive therapy.

Genetic factors have been shown to significantly influence individual dosage requirements for immunosuppressive drugs to achieve optimal therapeutic effects. Notably, genetic polymorphisms impact the pharmacokinetics of tacrolimus. Variations in the TGFB1 gene, as well as in genes encoding cytochrome P450 enzymes, have been linked to both the prescribed dose and the residual blood trough levels of tacrolimus in solid organ transplant recipients.

The lack of effective diagnostic and prognostic panels in the Russian market, coupled with extensive experience in identifying biomarkers of transplanted organ pathology, creates favorable conditions for the development of reliable, reproducible, and accessible diagnostic test systems for use in clinical transplant centers across the Russian Federation.

Интеграция генетических данных в рутинную клиническую практику позволит не просто реагировать на уже возникшее осложнение, а прогнозировать и по возможности предотвращать его развитие.

Инициированы работы по созданию отечественной технологии и тест-системы для персонифицированного подбора иммуносупрессивной терапии у реципиентов солидных органов (взрослых и детей) на основе оценки генетических полиморфизмов генов цитохрома P450 и TGFB1, тест-системы для мониторинга состояния трансплантата (развития фиброза) в отдаленные сроки после трансплантации, тест-системы на основе мультиплексной оригинальной технологии ПЦР с определением панели генетических маркеров для диагностического скрининга риска отторжения в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца, почки, печени, легких.

Ожидаемый эффект использования технологий (диагностических тест-систем) может реализоваться в существенном сокращении потребности в проведении диагностических инвазивных вмешательств (пункционной биопсии) и сопутствующих им осложнений, персонификации назначения и коррекции необходимой дозы иммуносупрессивных препаратов в соответствии с индивидуальными особенностями реципиента, снижении рисков отторжения трансплантата, минимизации побочных эффектов иммуносупрессивной терапии, повышении качества и увеличении продолжительности жизни реципиентов.

Incorporating genetic data into routine clinical practice will enable clinicians not only to manage complications once they arise but also to predict and, where possible, prevent their occurrence.

Efforts are underway to develop Russian technologies and diagnostic test systems for personalized selection of immunosuppressive therapy in solid organ transplant recipients (both adults and children), based on assessment of genetic polymorphisms in the cytochrome P450 and TGFB1 genes. Concurrently, work is progressing on creating a test system for long-term monitoring of graft status, with particular focus on early detection of post-transplant fibrosis. Additionally, diagnostic platforms employing multiplex PCR technology are being developed to evaluate panels of genetic markers for screening the risk of graft rejection during both early and late post-transplant periods in heart, kidney, liver, and lung recipients.

The anticipated benefits of implementing these diagnostic technologies include a significant reduction in the reliance on invasive diagnostic procedures, such as punch biopsies, and the associated risk of complications. Their application is also expected to facilitate the personalization of immunosuppressive therapy through individualized selection and dose adjustment based on the recipient's genetic profile. Furthermore, these approaches have the potential to lower the risk of transplant rejection, minimize adverse effects of immunosuppressive therapy, and ultimately improve both the quality of life and long-term survival of transplant recipients.

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



Sincerely,

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

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-8-18

OUTCOMES OF LIVER TRANSPLANTATION IN INCIDENTALLY DIAGNOSED COMBINED HEPATOCELLULAR-CHOLANGIOCARCINOMA: A 25-YEAR SINGLE-CENTER MATCHED COHORT STUDY

A. González De Godos, M. Bailón Cuadrado, P.L. Rodríguez Vielba, P. Pinto Fuentes, D. Pacheco Sánchez

General surgery and digestive system. Rio Hortega University Hospital, Valladolid, Spain

Background and aim. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma (cHCC-CCA) is a rare liver malignancy, which comprises clinical and morphological features of both hepatocellular carcinoma (HCC) and cholangiocarcinoma (CC) and corresponds to 1–4.7% of cases of primary liver carcinomas. At present, Liver transplantation (LT) is not routinely recommended for known cHCC-CCA due to concerns regarding aggressive behavior and recurrence risk. However, incidental diagnoses after LT performed for presumed HCC raise questions regarding post-transplant outcomes. **Material and methods.** We conducted a retrospective single-center study including patients who underwent LT between 2000 and 2025. Patients with incidentally diagnosed cHCC-CCA on explant pathology were matched 1 : 2 with HCC controls according to age, year of transplantation, donor type, tumor burden at explant (number and size), lymphovascular invasion, locoregional therapy, and BAR score. Overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) were analyzed using Kaplan–Meier estimates and compared with the log-rank test. **Results.** After matching, 9 patients with cHCC-CCA were matched with 18 HCC controls. Five-year OS was 41.7% in the cHCC-CCA group and 81.5% in the HCC group ($p = 0.26$) and Five-year DFS was 70% versus 85.9%, respectively ($p = 0.25$). Recurrence occurred in two patients in each group. To date, this 25-year study represents one of the most rigorously matched European analyses, uniquely incorporating lymphovascular invasion and BAR score as matching variables. **Conclusions.** Despite the fact that no statistically significant differences were demonstrated in post-transplant survival or recurrence between the groups, worse results could be observed in the studied group, which is consistent with the current non-indication of LT for cHCC-CCA. This study was substantially underpowered, so the absence of statistical significance should not be interpreted as clinical equivalence.

Key words: hepatocellular carcinoma (HCC), cholangiocarcinoma (CC), combined hepatocellular-cholangiocarcinoma (cHCC-CCA), primary liver cancer (PLC), liver transplantation (LT).

DECLARATIONS

Ethics approval and consent to participate. The study was approved by the institutional research ethics committee (PI-26-59-H) and certified that the study was performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

Consent for publication. That publication has been approved by all co-authors at the institute where the work has been carried out.

Availability of data and material. All data generated or analysed during this study are included in this published article.

Competing interests. The authors have stated explicitly that there are no conflicts of interest in connection with this article. The work described has not been published before. It is not under consideration for publication anywhere else.

Funding. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors' contributions. AGDG: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing. MBC: Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing. PLRV: Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing. PPF: Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing. DPS: Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing.

Acknowledgements. Not applicable.

LIST OF ABBREVIATIONS

Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma (cHCC-CCA)

Hepatocellular carcinoma (HCC)

Cholangiocarcinoma (CC)

Primary liver cancer (PLC)

Corresponding author: Andrea González De Godos. Address: Street Dulzaina, 2, 47012 Valladolid (Spain). Phone: +34 711749153. E-mail: agonzalezdeg@saludcastillayleon.es

Liver transplantation (LT)
Donation after Circulatory Death (DCD)
Donation after Brain Death (DBD)
Overall survival (OS)
Disease-free survival (DFS)
Primary nonfunction (PNF)
Locoregional therapy (LRT)
Transcatheter arterial chemoembolization (TACE)
Radiofrequency ablation (RFA)
Up to seven criteria (U7)
University of California San Francisco (UCSF)

INTRODUCTION

Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma (cHCC-CCA) is a rare liver malignancy, which comprises clinical and morphological features of both hepatocellular carcinoma (HCC) and cholangiocarcinoma (CC) [1]. It corresponds to 1–4.7% of cases of primary hepatic carcinomas, but are seen more and more frequently in clinical practice [2]. Due to the overlap in clinical and radiological features, some patients who undergo liver transplantation (LT) for HCC may have a precise diagnosis of cHCC-CCA made only after histopathological evaluation of the explanted liver. Such incidentally identified cHCC-CCA may occur in 1–2% of transplants for HCC [3].

This unique malignant entity was first reported by Wells in 1903 [4]. Since then, there have been several classifications: Allen and Lisa (1949) [5], Goodman et al. (1985) [6] and WHO (2010) [7]. According to the 2010 classification, cHCC-CCA must have an «unequivocal presence of hepatocyte and cholangiocytic differentiation within the same tumor» [7]. Compared to the previous WHO histological classification system, the new version in 2019 now recommends distinctive diagnostic terms for intermediate cell carcinomas and cholangiolocarcinomas (previous cholangiolocellular carcinoma subtype) [8].

Establishment of the correct preoperative diagnosis by means of imaging studies or histopathological biopsy interpretation is difficult, and the majority of patients are misdiagnosed as either HCC or CC [1]. Moreolrver, the treatment of choice has not yet been defined. To date, only a few, small volume case series reporting outcomes of LT in patients with cHCC-CCA have been published, with contradicting results [9]. Traditionally, disease-free survival and overall survival have been reported for patients with cHCC-CCA significantly worse compared to patients with HCC [10–13]. Nevertheless, some recent reports suggest that LT may be an effective therapeutic method for the treatment of cHCC-CCA after strict screening of candidates [4, 14, 15].

At present, cHCC-CCA is not an indication for LT due, in part, to the absence of data supporting improved prognosis following LT and aggressive disease course observed in practice. However, the published reports have several limitations: historical bias, the grouping of cHCC-CCA with CC [11, 16–18], lack of consideration of tumor burden, pre-operative therapy and lymphovascular invasion; and other variables that also influence graft survival and overall survival, such as recipient age, Model for End-stage Liver Disease (MELD) score and type of donation [16].

The aim of this study is to compare the outcomes of LT in patients with cHCC-CCA versus HCC after simple matching. Our hypothesis is that, controlling for the main oncological and non-oncological variables that influence patient survival, LT for cHCC-CCA offers similar outcomes to HCC.

MATERIALS AND METHODS

This is a retrospective and observational study with a simple 1 : 2 matching between cHCC-CCA patients and HCC patients with LT between 2000 and 2025 at the Rio Hortega University Hospital (Valladolid). In our study, cases identified as cHCC-CCA in the histopathological examination of the explanted liver comprised the study group. A control group was created with patients with a proven final diagnosis of HCC.

Exclusion criteria: <18 years, cHCC-CCA patients who do not meet the criteria of the latest classification (WHO 2019), and patients with early retransplantation (<30 days).

Propensity score matching could not be performed due to the low number of cases, so simple matching was performed according to: Age ±10 years; Donor type [Donation after Circulatory Death (DCD) or Donation after Brain Death (DBD)]; Year of transplantation ±5 years; Explant pathologic characteristics: Number of tumor nodules ±1, Size of the largest tumor nodule (cm) ±1, Lymphovascular invasion (Yes/No); Previous locoregional treatment (Yes/No); Balance of Risk (BAR) score ±2.

Epidemiological, anthropometric, analytical data and data relating to medical-surgical history, preoperative study, the surgical procedure itself and postoperative results are included. Overall survival (OS) was defined by the length of time (months) from the date of LT to date of death or date of last follow-up, while Disease-free survival (DFS) was defined by time from transplant date to date of recurrence, date of death, or date of the last follow-up, whichever occurred first.

Statistical analysis of data was performed using SPSS™ software, version 23 (IBM Corp). Qualitative variables were expressed as absolute numbers of frequencies or percentages, and quantitative variables as medians and ranges. Categorical variables were tested with the Pearson chi-square test, and when appropriate, Fisher's exact test. To study the differences between independent means, the Student's t-test (parametric, continuous quantitative variables) or the Mann–Whitney U test (non-parametric, discrete quantitative variables) was used for two groups. Patient survival rates were estimated with the Kaplan–Meier method and compared with

the log-rank test. A univariate Cox proportional hazards analysis was also performed. A P value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Sample size and statistical power: Using the Schoenfeld formula, post-hoc power for detecting the observed Hazard Ratio (HR) of 1.93 for overall survival (with 12 events) is approximately 20.6%; for disease-free survival (HR = 3.00, approximately 6 events), it is 26.9%. Achieving 80% power for the observed OS effect would require approximately 73 events. Consequently, the absence of statistical significance is mathematically predetermined at this sample size and should not be interpreted as evidence of clinical equivalence, but rather as an exploratory and hypothesis-generating analysis.

The study was approved by the institutional research ethics committee (PI-26-59-H) and certified that the study was performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. Written informed consent was obtained from patients or their guardians.

RESULTS

Between 2000 and 2025, 889 patients received a first liver transplant at the Rio Hortega University Hospital. Histopathological examination performed after LT revealed cHCC-CCA in 15 patients. Four patients were excluded from the analysis because they did not meet the diagnostic criteria of the latest classification for cHCC-CCA (WHO 2019) and another two were excluded because they required re-transplantation in less than 30 days due to Primary nonfunction (PNF), leaving 9 individuals in the study group. After performing simple 1 : 2 matching by the criteria mentioned above, a total of 18 patients with HCC were analyzed (Fig. 1).

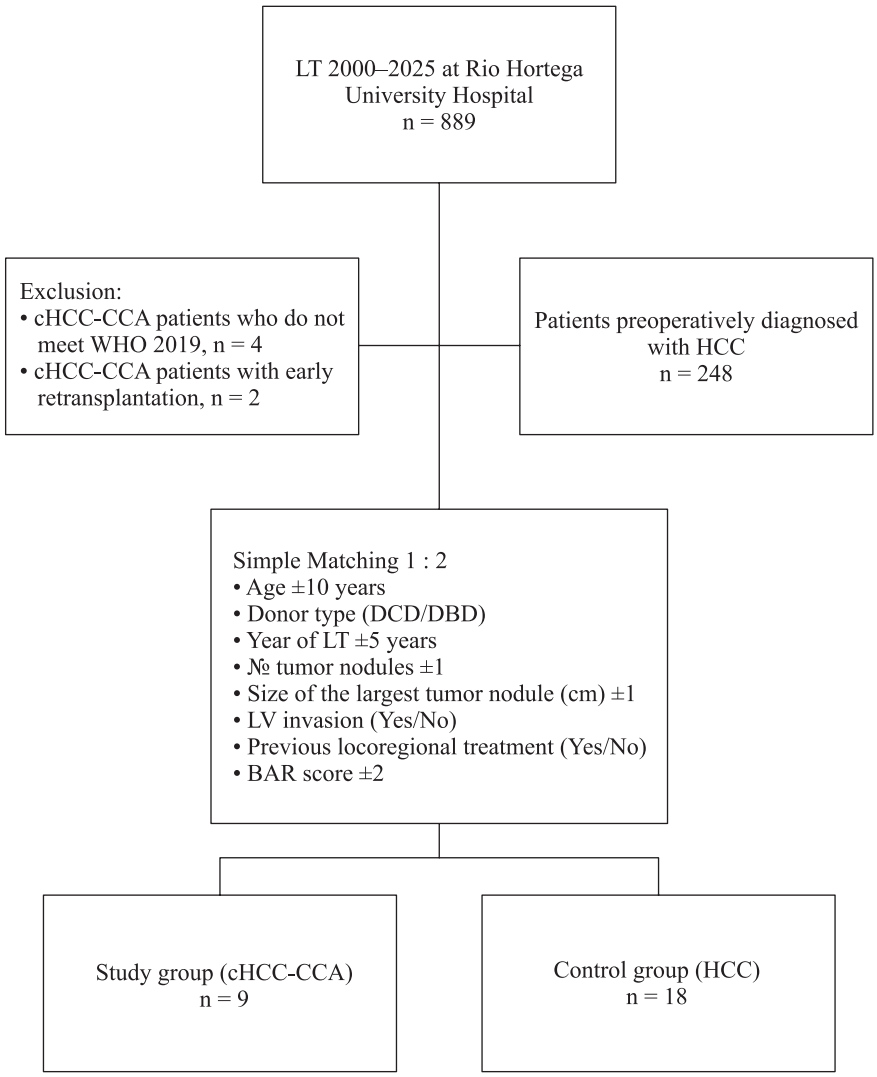


Fig. 1. Patient Flow. cHCC-CCA – combined hepatocellular-cholangiocarcinoma; HCC – Hepatocellular carcinoma; LT – liver transplantation; LV – Lymphovascular; DCD – Donation after Circulatory Death; DBD – Donation after Brain Death. Causes for exclusion and variables for the matching are detailed in the diagram. There were a total of 889 transplant patients in our hospital, of whom the indication for HCC was detected in 248. After reviewing the histopathological examination of all of them, 15 cHCC-CCA cases were found. Finally, 27 patients were analyzed after applying the inclusion and exclusion criteria and simple matching

The study group comprised of 1 female and 8 males. Characteristics are presented in Table 1. The age at transplant for these patients ranged between 53–62 years; and for the 18 HCC patients, four were females and fourteen were males with age at transplant ranging from 54 to 63 years. The analysis of BMI reflects comparable results: median of 26.54 with range 25–29 kg/m^2 in the cHCC-CCA group and median of 29.66 with range

Table 1

Baseline characteristics

Baseline characteristics	cHCC-CCA	HCC	p-value
Gender, n (%)			0.64
• Female	1 (11.1)	4 (22.2)	
• Male	8 (88.9)	14 (77.8)	
Donor age, median (IQR), years	68.5 (65.25–70.75)	69.5 (61–74.25)	0.45
Donor type, n (%)			NA
• DCD	0 (0)	0 (0)	
• DBD	9 (100)	18 (100)	
Recipient age, median (IQR), years	57 (53–61.50)	60 (54–63.25)	0.62
BMI, median (IQR), kg/m^2	26.54 (24.95–29.38)	29.66 (25.44–32.99)	0.24
Indication, n (%)			0.25
• Preoperatively diagnosed with HCC	7 (77.8)	17 (94.4)	
• Decompensated cirrhosis	2 (22.2)	1 (5.6)	
Cirrhosis etiology, n (%)			0.14
• Alcoholic	5 (55.6)	8 (44.4)	
• Viral Hepatitis C	3 (33.3)	2 (11.1)	
• Viral Hepatitis B	1 (11.1)	1 (5.6)	
• Mixed	0 (0)	7 (38.9)	
MELD Score, median (IQR)	9 (7.5–13.5)	9 (8–13)	0.56
Preoperative nºnodules, median (IQR)	2 (0.5–3)	1 (1–2)	0.90
Preoperative largest nodule, median (IQR), cm	2.6 (1.9–3.3)	2.4 (1.95–3.10)	0.86
LRT, n (%)			0.33
• TACE	1 (11.1)	2 (11.1)	
• RFA	1 (11.1)	0 (0)	
• Mixed	0 (0)	1 (5.55)	
• No	7 (77.8)	15 (83.3)	
Tumor location, n (%)			1.00
• Unilobar	6 (85.7)	14 (82.4)	
• Bilobar	1 (14.3)	3 (17.6)	
Previous biopsy	1 (11.1)	2 (11.1)	1.00
Preoperative Milan criteria, n (%)	5 (71.4)	16 (94.1)	0.19
Preoperative UCSF criteria, n (%)	7 (100)	16 (94.1)	1.00
Preoperative U7 criteria, n (%)	7 (100)	17 (100)	NA
Preoperative Metroticket 2.0 (%), median (IQR)	75.3 (69–83.2)	83.9 (71.5–85.5)	0.27
AFP before liver transplant, n (%)			0.28
• <50 ng/ml	7 (77.8)	15 (83.3)	
• 50–200 ng/ml	0 (0)	2 (11.1)	
• >200 ng/ml	2 (22.2)	1 (5.6)	
BAR score, median (IQR)	3 (2–4.5)	3.5 (3–4.25)	0.60

Note. IQR – interquartile range; BMI – Body mass index; LRT – Locoregional therapy; TACE – Trans-arterial chemoembolization; RFA – radiofrequency ablation; AFP – Alpha-fetoprotein; DCD – Donation after Circulatory Death; DBD – Donation after Brain Death; NA – Not applicable. Milan criteria: single tumour ≤5 cm in size or ≤3 tumours each ≤3 cm in size, and no macrovascular invasion. UCSF: University of California San Francisco criteria, single lesion <6.5 cm, maximum of 3 lesions with none >4.5 cm, and cumulative tumor size <8 cm. U7: up-to-seven criteria, hepatocellular carcinomas with seven as the sum of the size of the largest tumour [in cm] and the number of tumours. Metroticket 2.0: 5-year predicted survival after liver transplantation. The Milan, UCSF, U7 preoperative criteria and Metroticket 2.0 were only analyzed in patients previously diagnosed with HCC. Data is missing for some variables due to incomplete records. For variables with missing data, only complete cases were reported. Categorical variables were tested with the Pearson chi-square test or Fisher's exact test. To study the differences between independent means, the Student's t-test or the Mann–Whitney U test was used. A P value of less than 0.05 was considered statistically significant.

25–33 kg/m^2 in the HCC group, p > 0.05. Likewise, the donor's age was similar between both groups: median 68.5 years with range 65–71 in the study group and median 69.5 years with range 61–74 in the control group (p > 0.05) and 100% of donors came from Donation after Brain Death (DBD). The primary underlying disease in each group is also listed in Table 1, with alcoholic disease being the most frequent cause that motivated the LT (55.6% cHCC-CCA and 44.4% HCC). The groups did not differ in preoperative MELD score (median 9 *vs* 9, p > 0.05). 77.8% of the study group and 94.4% of the control group met the radiological criteria for HCC, were presumed to have HCC at the time of inclusion on the list for LT and underwent locoregional therapy (LRT) 22.2% and 16.7% respectively while awaiting LT. The types of LRT received by the patients were transcatheter arterial chemoembolization (TACE), radiofrequency ablation (RFA) or a combination of both. The frequencies are described in Table 1. The most frequent finding was that the tumor was located in a unilobar pattern (85.7% cHCC-CCA and 82.4% HCC). Patients with cHCC-CCA had a median of 2 lesions with a median diameter of 2.6 cm in the preoperative study, while those with HCC had 1 lesion with a median diameter of 2.4 cm. 11% of both groups underwent preLT biopsy, which yielded a result consistent with HCC. 100% of patients met the Up to seven criteria (U7) prior to LT. However, this number decreases for the Milan criteria (71% *vs* 94%, p > 0.05) and University of California San Francisco (UCSF) criteria (100% *vs* 94%, p > 0.05). Five-year predicted survival after liver transplantation by Metroticket 2.0 was lower in the study group compared to the control group, without statistically significant differences (75% *vs* 84%, p > 0.05). The most frequent range in which alpha-fetoprotein (AFP) was found prior to LT was 50 ng/ml in each group (78% cHCC-CCA *vs* 83% HCC). Last but not least; the BAR score, which provides a reliable tool to detect unfavorable combinations of donor and recipient factors (including MELD, Retransplantation, Life support, Recipient Age, Cold ischaemia, Donor Age), was comparable in both groups: median 3 study group *vs* 3.5 control group (p > 0.05). There are no re-transplants in the analyzed cohort and there are no statistically significant differences in any of the variables analyzed, which reflects a good matching.

On pathological evaluation of the study group, the median number of nodules was 2 and the median size of the largest nodule was 2.5 cm, with most tumors being G2 in Edmondson–Steiner grading system (22.2%) and exhibiting the same frequencies in the different degrees of tumor differentiation. There were 22.2% who presented satellite nodules and in all cases that received LRT there was partial tumor regression in the histopathological examination. Similar to this, on pathological evaluation of the control group the median number of nodules was 2 and the median size of the largest nodule was 2.3 cm, with most tumors being G2 in Edmondson–Steiner grading system (55.6%) and moderately differentiated (55.6%). There were 11.1% who presented satellite nodules and in 2 of 3 cases that received LRT there was partial tumor regression in the histopathological examination. The presence of vascular invasion on pathology was similar in the study group (22.2%) compared to the control group (16.7%), with the difference not being statistically significant (p > 0.05). Most cHCC-CCA were located in one liver lobe (88.9%), as in the HCC group (72.2%), p > 0.05. Moreover, there were no statistically significant differences in cold ischemia time (median 366 min cHCC-CCA *vs* 370 min HCC, p > 0.05). The complete descriptive data are presented in Table 2. Of the patients ultimately diagnosed with HCC, 66.7% met the Milan criteria, and 83.3% met the UCSF and U7 criteria. This variable was not analyzed in cHCC-CCA since these criteria only consider HCC. Regarding the postoperative Metroticket 2.0, the control group had a 5-year predicted survival after liver transplantation of 73.8%.

There were two recurrences in both groups (22.2% study group *vs* 11.1% control group, p > 0.05), with average disease-free survival times of 121 and 183 months in the study and control groups, respectively (p > 0.05) (Table 2). Only one had received LRT. All patients had an AFP level between 100 and 1000 ng/ml at the time of relapse, and 100% of cHCC-CCA recurrence group had AFP >200 ng/ml before LT. 50% of both groups experienced both extrahepatic and intrahepatic recurrence. The most commonly used treatment was sorafenib, although radiotherapy was also administered in one case for bone metastases. Most patients experienced early recurrence (<12 months), with greater variability in overall survival time. The cases are detailed in Table 3.

SURVIVAL ANALYSIS

Overall mortality in the study group was 55.6% and 38.9% in the control group (p > 0.05), with average follow-up times of 76 and 123 months in the study and control groups, respectively (p > 0.05). The majority in both groups died with a functioning liver graft (60% cHCC-CCA *vs* 71.4% HCC) (Table 2). Overall survival at 1, 3, and 5 years in the study group was 55.6%, 41.7%, and 41.7%, and in the control group 88.9%, 88.9%, and 81.5% (p = 0.26). The Kaplan–Meier curves are shown in Fig. 2. Disease-free survival (DFS) rates at 1, 3 and 5 years were 70% for cHCC-CCA group and 93.8%, 93.8% and 85.9% respectively for the HCC group (p = 0.25) (Fig. 3). In univariable Cox proportional hazards analysis, there were no statistically significant differences in both OS (HR, 1.93; 95% CI, 0.60–6.13; p = 0.26) and DFS (HR, 3.00; 95% CI, 0.42–21.61; p = 0.27) for patients with cHCC-CCA.

Table 2

Outcomes

Outcomes	cHCC-CCA	HCC	p-value
Primary outcomes			
Overall survival, mean (IC 95%), months	76.42 (22.30–130.53)	123.16 (83.79–162.53)	0.26
Disease-free survival, mean (IC 95%), months	121.2 (63.18–179.22)	182.84 (150.39–215.30)	0.25
Secondary outcomes			
Cold ischaemia time, median (IQR), min	366 (340–401.50)	370 (317.50–466.25)	0.47
Pathology number of nodules, median (IQR)	2 (1–3)	2 (1–2)	0.51
Pathology largest nodule, median (IQR), (cm)	2.5 (2.1–4.35)	2.3 (2–3.62)	0.73
Differentiation, n (%)			0.13
• Well differentiated	1 (11.1)	6 (33.3)	
• Moderately differentiated	1 (11.1)	10 (55.6)	
• Poorly differentiated	1 (11.1)	2 (11.1)	
• Necrosis	1 (11.1)	0 (0)	
• Missing data	5 (55.5)	0 (0)	
Edmondson–Steiner grading system, n (%)			0.80
• I	0 (0)	2 (11.1)	
• II	2 (22.2)	10 (55.6)	
• III	1 (11.1)	4 (22.2)	
• IV	0 (0)	0 (0)	
• Missing data	6 (66.7)	2 (11.1)	
Pathology satellite nodes, n (%)	2 (22.2)	2 (11.1)	0.58
Pathology lymphovascular invasion, n (%)	2 (22.2)	3 (16.7)	1.00
LRT response, n (%)			1.00
• Complete response	0 (0)	0 (0)	
• Partial response	2 (100)	2 (66.7)	
• Progressive disease	0 (0)	0 (0)	
• Non-responders	0 (0)	1 (33.3)	
Pathology tumor location, n (%)			0.63
• Unilobar	8 (88.9)	13 (72.2)	
• Bilobar	1 (11.1)	5 (27.8)	
Postoperative Milan criteria, n (%)	NA	12 (66.7)	NA
Postoperative UCSF criteria, n (%)	NA	15 (83.3)	NA
Postoperative U7 criteria, n (%)	NA	15 (83.3)	NA
Postoperative Metroticket 2.0 (%), median (IQR)	NA	73.8 (68.62–74.4)	NA
Recurrence, n (%)	2 (22.2)	2 (11.1)	0.58
Deaths, n (%)	5 (55.6)	7 (38.9)	0.44
• Functioning graft ◦ Tumor ◦ Infection ◦ Other	 2 (40) 1 (20) 0 (0)	 2 (28.6) 1 (14.3) 2 (28.6)	
• Graft failure	2 (40)	2 (28.6)	

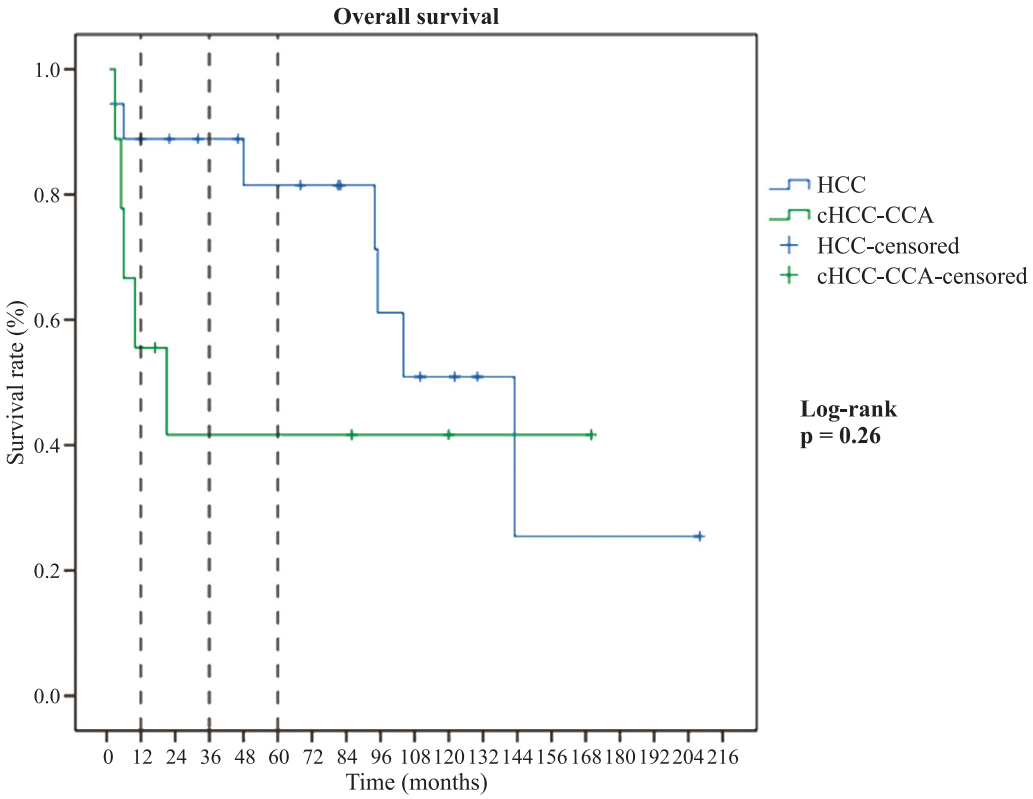
Note. IQR – Interquartile range; LRT – Locoregional therapy; NA – Not applicable. Milan criteria: single tumour ≤5 cm in size or ≤3 tumours each ≤3 cm in size, and no macrovascular invasion. UCSF: University of California San Francisco criteria, single lesion <6.5 cm, maximum of 3 lesions with none >4.5 cm, and cumulative tumor size <8 cm. U7: up-to-seven criteria, hepatocellular carcinomas with seven as the sum of the size of the largest tumour [in cm] and the number of tumours. Metroticket 2.0: 5-year predicted survival after liver transplantation. The Milan, UCSF, U7 preoperative criteria and Metroticket 2.0 were only analyzed in patients finally diagnosed with HCC. Data are missing for some variables due to incomplete records, but these cases were not excluded from the analysis. The log-rank test was used to compare survival between groups. Categorical variables were tested with the Pearson chi-square test or Fisher's exact test. To study the differences between independent means, the Student's t-test or the Mann–Whitney U test was used. A P value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Table 3

Characteristics of patients with tumor recurrence

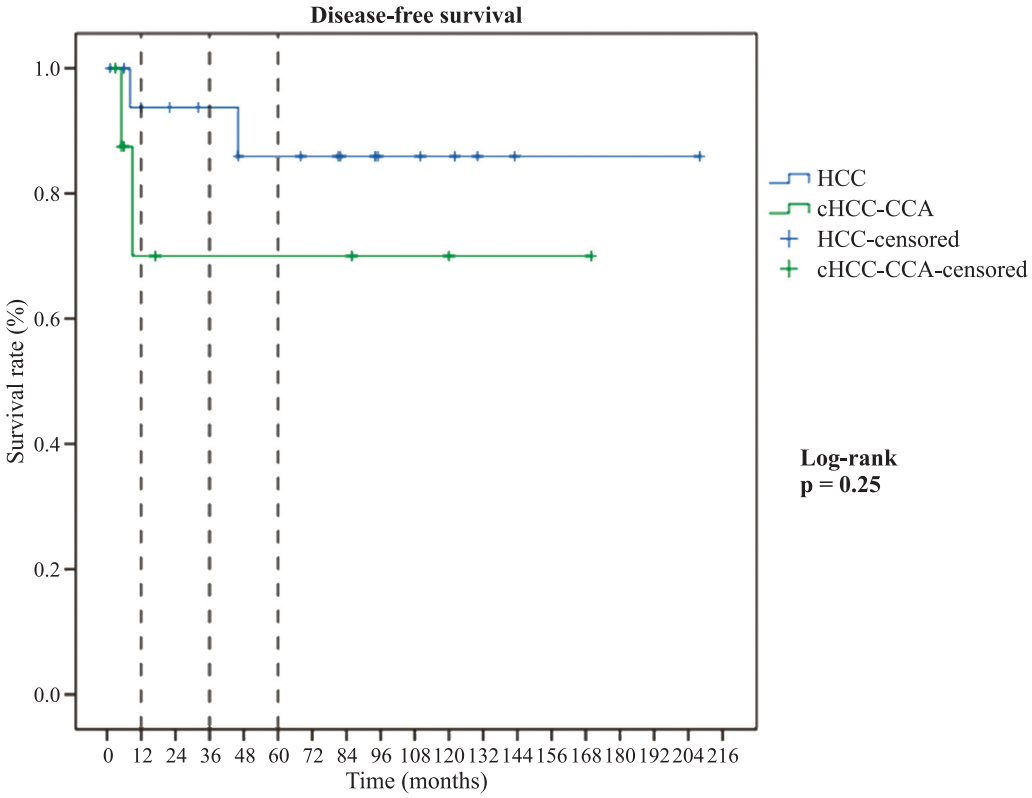
Patient	Age (years)	Cirrhosis etiology	Histological analysis	AFP before liver transplant (ng/ml)	AFP recurrence (ng/ml)	LRT	Location of recurrence (hepatic or extrahepatic)	Treatment	Disease-free survival (months)	Overall survival (months)	Death
1	61, male	VHB	cHCC-CCA, 2 × 6 cm, necrosis, LVI-, unilobar	>200	100–1000	No	Both	Missing data	9	10	Yes
2	59, female	VHC	cHCC-CCA, 4 × 4.5 cm, LVI +, unilobar, partial tumor regression	>200	100–1000	RFA	Extrahepatic	Sorafenib –> regorafenib	5	21	Yes
3	69, male	Mixed	HCC, 2 × 2.2 cm, G2, Moderately differentiated, LVI-, unilobar	<50	100–1000	No	Extrahepatic	RT + Sorafenib	46	104	Yes
4	63, male	Mixed	HCC, 1 × 3 cm, G3, Poorly differentiated, LVI +, unilobar	<50	100–1000	No	Both	Sorafenib	8	48	Yes

Note. LRT – Locoregional therapy; RFA – radiofrequency ablation; AFP – Alpha-fetoprotein; LVI – lymphovascular invasion; RT – radiotherapy.



Number at risk	0	12 m	24 m	36 m	48 m	60 m	72 m	84 m	96 m	108 m	120 m	132 m	144 m	156 m	168 m	180 m	192 m	204 m	216 m
Control group	18	15	14	13	11	11	10	8	6	5	4	2	1	1	1	1	1	1	0
Study group	9	5	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0

Fig. 2. Overall survival according to Kaplan–Meier curves. The 1-, 3- and 5-year overall survival rates for study group were 55.6%, 41.7% and 41.7%, respectively and in control group were 88.9%, 88.9% and 81.5%. The censored cases correspond to end of the follow-up period. The log-rank test was used to compare survival between groups, without statistically significant results (p = 0.26)



Number at risk	0	12 m	24 m	36 m	48 m	60 m	72 m	84 m	96 m	108 m	120 m	132 m	144 m	156 m	168 m	180 m	192 m	204 m	216 m
Control group	18	14	13	12	10	10	9	7	5	5	4	2	1	1	1	1	1	1	0
Study group	9	4	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0

Fig. 3. Disease-free survival according to Kaplan–Meier curves. DFS rates at 1, 3 and 5 years were 70% for cHCC-CCA group and 93.8%, 93.8% and 85.9% respectively for the HCC group. The censored cases correspond to end of the follow-up period. The log-rank test was used to compare survival between groups, without statistically significant results (p = 0.25)

DISCUSSION

LT provides the most favorable survival outcome for patients with primary liver cancer and even for patients with cHCC-CCA, survival after LT is better than with any other therapeutic modality. Unfortunately, the scarcity of donor liver allografts, historically reported high recurrence rates and inferior survival compared with HCC has put restrictions [19]. Therefore, it is imperative that outcomes for liver transplant for cHCC-CCA are equivalent to patients undergoing transplant for other currently accepted indications for liver transplantation. A study of the SEER and UNOS databases concluded worse outcomes for transplant for patients with cHCC-CCA compared to HCC; however, that study did not differentiate outcomes based on size or pathological evaluation and lacked granular data due to the retrospective use of large and old databases [2]. In our analysis, we performed a simple matching to ensure that the cHCC-CCA and HCC groups were comparable and that the difference in their results was primarily due to the type of tumor.

The number of cases in our series is lower than most of the main publications on the subject, with a total of 9 cases. The percentage of patients diagnosed with cHCC-CCA compared to the total of transplants analyzed was 0.16%. This percentage was lower than the largest series of cases described, between 2.8% [3] and 4.3% [20, 21]. This is probably because it is a single-center study in a tertiary center in a region of Spain.

Because of the low incidence of cHCC-CCA, few studies are available to provide detailed evaluation of outcomes following LT. Moreover, the majority of these studies mix evaluation of CC and cHCC-CCA, are old, have a historical bias and some do not meet the most current classification for cHCC-CCA (WHO 2019). One of the most noteworthy features of our study relates to the matching method we used. While several previous studies have matched HCC controls based on pre-transplant radiographic characteristics or pathological tumor burden at explant [3, 15, 20, 22], none of these studies have matched based on lymphovascular invasion or MELD score, which limits the ability to address whether cHCC-CCA tumors are truly inherently more aggressive. Kim et al. reported on their multivariate analysis that MELD score ≥20 (p = 0.04) was an independent risk factor for poor OS, whereas microvascular invasion (p = 0.01) was

an independent risk factor for poor DFS [16]. Another important issue is that patient overall survival depends not only on oncological prognosis, but also on patient- and transplant-related variables such as MELD score, retransplantation, life support at LT, recipient and donor age, cold ischemia time and donor type. Finally, to avoid historical bias in a database as long as ours, we matched by year of transplantation.

As most of these patients are cirrhotic patients, often with severe liver dysfunction and ascites, a biopsy is not always possible. When performed, the removed fragments may not be representative of the entire lesion or in multinodular tumors, a biopsy of one nodule does not guarantee the diagnosis of others [23]. In fact, only 3 patients in the studied cohort had a previous biopsy, which was compatible with HCC (subsequently one of them was cHCC-CCA). In the large multicenter Spanish cohort of 42 patients, 10 patients underwent pre-LT biopsy, with 7 biopsies incorrectly reporting a diagnosis of HCC and 3 biopsies being inconclusive [3]. Similarly, in the study published by Lunsford et al., only 33% of cHCC-CCA and 36% of HCC were biopsied prior to transplant and none of them tested positive for cHCC-CCA [15]. According to The 2024 ILTS-ILCA consensus recommendations for liver transplantation, «if any atypical imaging features are present, a biopsy should be performed to rule out cholangiocarcinoma or cHCC-CCA tumors, which can impact eligibility, prognosis and optimal treatment» [24].

Patients with cHCC-CCA are usually excluded from listing for LT due to the generally poor outcomes. In this single-center matched cohort with long-term follow-up, we did not identify statistically significant differences in overall or disease-free survival between incidentally diagnosed cHCC-CCA and HCC recipients, but outcomes were numerically inferior in the study group, particularly OS at 5 years (41.7% *vs* 81.5%). The absence of statistical significance must therefore be interpreted in the context of limited sample size and low recurrence number. The results are similar to those described by Sapisochin et al. in 2014 (93%, 78% and 78% *vs* 97%, 86% and 86%; p = 0.9) [3], Lunsford et al. in 2018 (75%, 54% and 42% versus 72%, 60%, and 48%; p = 0.54) [15], Antwi et al. in 2018 (survival of 1 and 3 years 84% and 74% versus 95% and 87%, p = 0.22) [22] and Dageforde et al. in 2021 (89%, 77% and 70% versus 90%, 81% and 73%; p = 0.81) [21], except for the lower survival of the study group in our series. The study reported by De Abreu et al [20]. found statistically significant differences in overall survival between both groups (survival of 1, 3, and 5 years, respectively, 70%, 57.5% and 57.5% study group versus 78.7%, 71.4% and 66.6% control group, p = 0.019), although it should be noted that the study group includes patients with CC. In fact, the same study acknowledges darker outcomes for CC.

cHCC-CCA has been shown to be significantly more likely to have poor differentiation compared with HCC [15, 25]. Recurrent disease appears to be associated more with the tumor grade/differentiation than pathologic size, although this could not be confirmed in our study, due to incomplete records due to retrospective data collection. In a Korean multivariate analysis, frequency of locoregional therapies >3, tumor size >3 cm, and lymph node metastasis were predisposing factors for tumor recurrence [26]. The cases that recurred presented some risk factor: vascular invasion, large size, or poor differentiation (Table 3). Several studies have analyzed the recurrence of cHCC-CCA. One of the earliest studies from Mayo Clinic Jacksonville reported a 58% recurrence rate [12], the group from Mount Sinai reported a recurrence of 44% [17], a Korean study reflected a recurrence rate of 35.1% [27] and a multicenter Spanish study published a recurrence in only 1 of 15 [3]. However, they included both cHCC-CCA patients as well as CC recipients, so the results should be taken with caution. Regarding previous studies, we found a lower recurrence in cHCC-CCA group (22.2%). According to DFS, the results are consistent with those reported by Lunsford et al. (66%, 42% and 42% versus 76%, 67%, and 61%; p = 0.17) [15] and Dageforde et al. (82%, 75% and 70% *vs* 87%, 78% and 70%; p = 0.74) [21], but higher than those reported by Amory et al. (51%, 25% and 17% versus 63%, 35% and 26%: p = 0.19) [28].

Kodali et al. found that both OS (HR, 4.67; 95% CI, 2.07–10.53; p < 0.001) and DFS (HR, 3.65; 95% CI, 1.70–7.82; p < 0.001) [29] were significantly inferior for patients with cHCC-CCA, but in our study we were unable to establish statistically significant differences in the increased risk of death and recurrence in the study group. The study is underpowered and as a result, the confidence intervals are very wide. Moreover, Five-year DFS of 70.0% alongside five-year OS of 41.7% creates an apparent paradox. Overall survival is affected not only by tumor recurrence in a functioning graft (40% in the study group), but also by graft failure (40%) and infections (20%). It is important to note that transplant recipients are immunocompromised and, therefore, more susceptible to infectious diseases, cardiovascular disease, and other tumors [30].

Overall, our study contributes long-term European single-center data to a limited body of literature addressing incidental cHCC-CCA after LT. While it does not demonstrate equivalence to HCC, it could serve as a pilot study to analyze cHCC-CCA subgroups that might benefit from LT or to conduct a more statistically powerful European multicenter study.

LIMITATIONS AND FUTURE DIRECTIONS

There are several limitations to the present study. First, the sample size of the cHCC-CCA group was small (n = 9), resulting in limited statistical power to detect

clinically meaningful differences in survival. Second, the retrospective and single-center design introduces potential selection bias. Only incidentally diagnosed after LT cases were included, which may represent a biologically more favorable subset of cHCC-CCA. Third, the number of recurrence events was low, limiting robust multivariable risk modeling and precluding definitive conclusions regarding prognostic factors. The proportional hazards assumption has not been verified due to the small sample size. Given the survival patterns, the Cox hazard ratio could represent a potentially misleading «time-averaged» effect. These data should be considered within the context of an exploratory and hypothesis-generating analysis of a limited sample of patients at a tertiary center. Fourth, a high proportion of histopathological variables in study group, particularly tumor differentiation and Edmondson–Steiner grading, had missing data due to retrospective data collection, which may limit interpretation of biological aggressiveness. So, oncological biology of the cHCC-CCA cohort remains largely uncharacterized. Finally, the small sample size of the cHCC-CCA group impeded reliable estimation of hazard ratios, resulting in over-inflated risk estimates and wide confidence intervals. Given these limitations, results should be interpreted as exploratory and hypothesis-generating.

It is possible that the small number of cases, even in the most representative series, was responsible for the divergent results found to date. The greatest challenge to any potential prospective trial investigating the benefits of LT for patients with cHCC-CCA is the limited ability to accurately diagnose these cancers in the pre-operative setting. International multicenter collaborations and meta-analyses of available data may help answer this question in the future.

CONCLUSIONS

To date, this 25-year study represents one of the most rigorously matched European analyses, uniquely incorporating lymphovascular invasion and BAR score as matching variables. Although cHCC-CCA did not demonstrate statistically significant differences in post-transplant survival or recurrence compared with HCC, outcomes were numerically inferior. It is consistent with the current non-indication of LT for cHCC-CCA. This study was substantially underpowered (post-hoc power for OS <21%), and the absence of statistical significance should not be interpreted as clinical equivalence. Larger multicenter studies are required.

REFERENCES

1. *Maganty K, Levi D, Moon J, Bejarano PA, Arosemena L, Tzakis A et al*. Combined hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: outcome after liver transplantation. *Dig Dis Sci*. 2010 Dec; 55 (12): 3597–3601. doi: 10.1007/s10620-010-1402-3. PubMed PMID: 20848202.
2. *Garancini M, Goffredo P, Pagni F, Romano F, Roman S, Sosa JA et al*. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: a population-level analysis of an uncommon primary liver tumor. *Liver Transpl*. 2014 Aug; 20 (8): 952–959. doi: 10.1002/lt.23897. PubMed PMID: 24777610.
3. *Sapisochin G, de Lope CR, Gastaca M, de Urbina JO, López-Andujar R, Palacios F et al*. Intrahepatic cholangiocarcinoma or mixed hepatocellular-cholangiocarcinoma in patients undergoing liver transplantation: a Spanish matched cohort multicenter study. *Ann Surg*. 2014 May; 259 (5): 944–952. doi: 10.1097/SLA.0000000000000494. PubMed PMID: 24441817.
4. *Wells HG*. Primary carcinoma of the liver. *AJMS*. 1903; 126: 403.
5. *Allen RA, Lisa JR*. Combined liver cell and bile duct carcinoma. *Am J Pathol*. 1949 Jul; 25 (4): 647–655. PubMed PMID: 18152860; PubMed Central PMCID: PMC1942823.
6. *Goodman ZD, Ishak KG, Langloss JM, Sesterhenn IA, Rabin L*. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma. A histologic and immunohistochemical study. *Cancer*. 1985 Jan 1; 55 (1): 124–135.doi:10.1002/1097-0142(19850101)55:1<124::aid-cncr2820550120>3.0.co;2-z. PubMed PMID: 2578078.
7. *Theise N*. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma. WHO classification of tumours of the digestive system. 4[a]. 2010: 225–227.
8. *Kim TH, Kim H, Joo I, Lee JM*. Combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma: Changes in the 2019 World Health Organization Histological Classification System and Potential Impact on Imaging-Based Diagnosis. *Korean J Radiol*. 2020 Oct; 21 (10): 1115–1125. doi: 10.3348/kjr.2020.0091. PubMed PMID: 32729276; PubMed Central PMCID: PMC7458861.
9. *Jaradat D, Bagias G, Lorf T, Tokat Y, Obed A, Oezcelik A*. Liver transplantation for combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: Outcomes and prognostic factors for mortality. A multicenter analysis. *Clin Transplant*. 2021 Feb; 35 (2): e14094. doi: 10.1111/ctr.14094. PubMed PMID: 32970878.
10. *Sapisochin G, Fidelman N, Roberts JP, Yao FY*. Mixed hepatocellular cholangiocarcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma in patients undergoing transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl*. 2011 Aug; 17 (8): 934–942. doi: 10.1002/lt.22307. PubMed PMID: 21438129.
11. *Lee JH, Chung GE, Yu SJ, Hwang SY, Kim JS, Kim HY et al*. Long-term prognosis of combined hepatocellular and cholangiocarcinoma after curative resection comparison with hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *J Clin Gastroenterol*. 2011 Jan; 45 (1): 69–75. doi: 10.1097/MCG.0b013e3181ce5dfa. PubMed PMID: 20142755.
12. *Panjala C, Senecal DL, Bridges MD, Kim GP, Nakhleh RE, Nguyen JHH et al*. The diagnostic conundrum and liver transplantation outcome for combined hepatocellular-cholangiocarcinoma. *Am J Transplant*. 2010 May; 10 (5): 1263–1267. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03062.x. PubMed PMID: 20420633.
13. *Chang CC, Chen YJ, Huang TH, Chen CH, Kuo FY, Eng HL et al*. Living Donor Liver Transplantation for

Combined Hepatocellular Carcinoma and Cholangiocarcinoma: Experience of a Single Center. *Ann Transplant*. 2017 Feb 28; 22: 115–120. doi: 10.12659/aot.900779. PubMed PMID: 28242867; PubMed Central PMCID: PMC12577201.

14. *Wu D, Shen ZY, Zhang YM, Wang J, Zheng H, Deng YL et al*. Effect of liver transplantation in combined hepatocellular and cholangiocellular carcinoma: a case series. *BMC Cancer*. 2015 Apr 8; 15: 232. doi: 10.1186/s12885-015-1252-7. PubMed PMID: 25886479; PubMed Central PMCID: PMC4409743.
15. *Lunsford KE, Court C, Seok Lee Y, Lu DS, Naini BV, Harlander-Locke MP et al*. Propensity-Matched Analysis of Patients with Mixed Hepatocellular-Cholangiocarcinoma and Hepatocellular Carcinoma Undergoing Liver Transplantation. *Liver Transpl*. 2018 Oct; 24 (10): 1384–1397. doi: 10.1002/lt.25058. PubMed PMID: 29573187.
16. *Kim SH, Hwang S, Kim BW, Joo DJ, Lee KW, Choi GS et al*. Liver Transplantation for Combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma: A Retrospective Registry-Based Study Using the Korean Organ Transplant Registry (KOTRY). *Ann Transplant*. 2025 Dec 16; 30: e949241. doi: 10.12659/AOT.949241. PubMed PMID: 41399117; PubMed Central PMCID: PMC12764160.
17. *Facciuto ME, Singh MK, Lubezky N, Selim MA, Robinson D, Kim-Schluger L et al*. Tumors with intrahepatic bile duct differentiation in cirrhosis: implications on outcomes after liver transplantation. *Transplantation*. 2015 Jan; 99 (1): 151–157. doi: 10.1097/TP.0000000000000286. PubMed PMID: 25029385.
18. *Ma L, Xia Q, Sha M*. Outcomes of Liver Transplantation in Incidental Intrahepatic Cholangiocarcinoma and Combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma: An Exceptional Perspective from a Single-Center Experience. *J Clin Med*. 2025 Dec 15; 14 (24): 8857. doi: 10.3390/jcm14248857. PubMed PMID: 41464759; PubMed Central PMCID: PMC12733566.
19. *Magistri P, Tarantino G, Serra V, Guidetti C, Ballarin R, Di Benedetto F*. Liver transplantation and combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: Feasibility and outcomes. *Dig Liver Dis*. 2017 May; 49 (5): 467–470. doi: 10.1016/j.dld.2017.01.166. PubMed PMID: 28258929.
20. *De Abreu Neto IP, Pugliese V, Massarollo PCB, Benini BB, Marta MMM, Takenaka VS et al*. Retrospective comparative analyses of liver transplantation for intrahepatic cholangiocarcinoma and combined hepatocellular cholangiocarcinoma versus hepatocellular carcinoma in Brazil. *HPB (Oxford)*. 2025 May; 27 (5): 640–648. doi: 10.1016/j.hpb.2025.01.008. PubMed PMID: 39890516.
21. *Dageforde LA, Vachharajani N, Tabrizian P, Agopian V, Halazun K, Maynard E et al*. Multi-Center Analysis of Liver Transplantation for Combined Hepatocellular Carcinoma-Cholangiocarcinoma Liver Tumors. *J Am Coll Surg*. 2021 Apr; 232 (4): 361–371. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2020.11.017. PubMed PMID: 33316425; PubMed Central PMCID: PMC8450541.
22. *Antwi SO, Habboush YY, Chase LA, Lee DD, Patel T*. Response to Loco-Regional Therapy Predicts Outcomes After Liver Transplantation for Combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma. *Ann Hepatol*. 2018 Oct 16; 17 (6): 969–979. doi: 10.5604/01.3001.0012.7197. PubMed PMID: 30600299.
23. *Brunt E, Aishima S, Clavien PA, Fowler K, Goodman Z, Gores G et al*. cHCC-CCA: Consensus terminology for primary liver carcinomas with both hepatocytic and cholangiocytic differentation. *Hepatology*. 2018 Jul; 68 (1): 113–126. doi: 10.1002/hep.29789. PubMed PMID: 29360137; PubMed Central PMCID: PMC6340292.
24. *Kodali S, Kulik L, D'Allessio A, Martin ED, Hakeem AR, Sapisochin G*. The 2024 ILTS-ILCA consensus recommendations for liver transplantation for HCC and intrahepatic cholangiocarcinoma. *Liver transplantation: official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2025 Jan 6; 31 (6). doi: 10.1097/LVT.0000000000000589. PubMed PMID: 40014003.
25. *Bergquist JR, Groeschl RT, Ivanics T, Shubert CR, Habermann EB, Kendrick ML et al*. Mixed hepatocellular and cholangiocarcinoma: a rare tumor with a mix of parent phenotypic characteristics. *HPB (Oxford)*. 2016 Nov; 18 (11): 886–892. doi: 10.1016/j.hpb.2016.07.006. PubMed PMID: 27546172; PubMed Central PMCID: PMC5094489.
26. *Kim J, Joo DJ, Hwang S, Lee JM, Ryu JH, Nah YW et al*. Liver transplantation for combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: A multicenter study. *World J Gastrointest Surg*. 2023 Jul 27; 15 (7): 1340–1353. doi: 10.4240/wjgs.v15.i7.1340. PubMed PMID: 37555110; PubMed Central PMCID: PMC10405106.
27. *Jeong IJ, Hwang S, Ahn CS, Moon DB, Ha TY, Song GW et al*. Long-Term Outcomes of Combined Hepatocellular Carcinoma-Cholangiocarcinoma After Liver Transplantation in Patients with or without Concurrent Hepatocellular Carcinoma. *Ann Transplant*. 2025 Oct 14; 30: e951088. doi: 10.12659/AOT.951088. PubMed PMID: 41084225; PubMed Central PMCID: PMC12535177.
28. *Amory B, Goumard C, Laurent A, Langella S, Cherqui D, Salame E et al*. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma compared to hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: Different survival, similar recurrence: Report of a large study on repurposed databases with propensity score matching. *Surgery*. 2024 Feb; 175 (2): 413–423. doi: 10.1016/j.surg.2023.09.040. PubMed PMID: 37981553.
29. *Kodali S, Connor AA, Victor DW, Abdelrahim M, Elaileh A, Patel K et al*. Incidental Combined Hepatocellular-Cholangiocarcinoma in Liver Transplant Recipients: A Matched Cohort Study. *Transpl Int*. 2025; 38: 15298. doi: 10.3389/ti.2025.15298. PubMed PMID: 41685088; PubMed Central PMCID: PMC12890706.
30. *Li DB, Si XY, Wang SJ, Zhou YM*. Long-term outcomes of combined hepatocellular-cholangiocarcinoma after hepatectomy or liver transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2019 Feb; 18 (1): 12–18. doi: 10.1016/j.hbpd.2018.10.001. PubMed PMID: 30442549.

The article was submitted to the journal on 5.03.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-19-30

ТЕЧЕНИЕ HCV-АССОЦИИРОВАННОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ЭЛИМИНАЦИИ ВИРУСА У ПАЦИЕНТОВ, ОЖИДАЮЩИХ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ

В.Л. Коробка[1, 2], О.М. Цирульникова[3, 4], Е.С. Пак[1, 2], В.Д. Пасечников[1], Р.В. Коробка[1, 2], М.Ю. Малеванный[1, 2], Д.В. Пасечников[5], П.С. Опря[1]

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

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

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

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

[5] ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, Российская Федерация

Цель: исследовать показатели повреждения печени (MELD и CTP) до и после проведения терапии препаратами прямого противовирусного действия; после элиминации вируса охарактеризовать клинические исходы HCV-ассоциированного декомпенсированного цирроза печени у больных, ожидающих трансплантацию. **Материалы и методы.** Проведено сравнительное проспективное исследование у 320 пациентов с декомпенсированным циррозом, находившихся в листе ожидания трансплантации печени. Проведен анализ демографических, клинических и лабораторных показателей, индексов MELD-Na, Child–Turcotte–Pugh (CTP), выраженности печеночной энцефалопатии, выраженности асцита, количества кровотечений и развившихся осложнений в группах пациентов до проведения терапии HCV и через 12 месяцев после достижения устойчивого вирусологического ответа (n = 320), а также в группах пациентов с развившейся рекомпенсацией (n = 113) и дальнейшей декомпенсацией цирроза печени (n = 207). Оценку накопленных рисков в сравниваемых группах проводили с помощью математической модели пропорциональных рисков (регрессии Кокса) в однофакторном и многофакторном анализе. **Результаты.** Через 12 месяцев последовательного наблюдения после достижения устойчивого вирусологического ответа отмечено достоверное увеличение количества лейкоцитов и тромбоцитов, альбумина, снижение креатинина, международного стандартизованного отношения, билирубина, снижение активности АЛТ и АСТ, снижение выраженности асцита, печеночной энцефалопатии, количества кровотечений, показателей CTP и MELD-Na. Установлены предикторы развития дальней декомпенсации цирроза (снижение концентрации Na в сыворотке крови, увеличение выраженности поражения печени по CTP, выраженности асцита и печеночной энцефалопатии, увеличение количества развившихся осложнений).

Ключевые слова: трансплантация печени, эрадикация HCV, устойчивый вирусологический ответ, рекомпенсация, дальнейшая декомпенсация цирроза, независимые предикторы.

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

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

CLINICAL COURSE OF HCV-ASSOCIATED LIVER CIRRHOSIS AFTER VIRAL ERADICATION IN TRANSPLANT CANDIDATES

V.L. Korobka[1, 2], O.M. Tsirulnikova[3, 4], E.S. Pak[1, 2], V.D. Pasechnikov[1], R.V. Korobka[1, 2], M.Yu. Malevanny[1, 2], D.V. Pasechnikov[5], P.S. Oprya[1]

[1] Rostov Regional Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russian Federation
[2] Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation
[3] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[4] Sechenov University, Moscow, Russian Federation
[5] Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Objective: to investigate markers of liver injury (MELD-Na and Child–Turcotte–Pugh [CTP] scores) before and after treatment with direct-acting antiviral (DAA) therapy, and to characterize clinical outcomes of HCV-associated decompensated liver cirrhosis following viral eradication in liver transplant (LT) candidates. **Materials and methods.** A prospective comparative study was conducted in 320 patients with decompensated cirrhosis listed for LT. Demographic, clinical, and laboratory parameters were analyzed, including MELD-Na and CTP scores, severity of hepatic encephalopathy, ascites, number of bleeding episodes, and occurrence of complications. Assessments were performed prior to HCV therapy and 12 months after achieving sustained virologic response (SVR). Subgroup analyses included patients who transitioned to compensated cirrhosis (n = 113) and those who remained or progressed to decompensated cirrhosis (n = 207). Cumulative risks were evaluated using Cox proportional hazards regression in univariate and multivariate models. **Results.** After 12 months of follow-up following the achievement of SVR, significant increases were observed in white blood cell and platelet counts, as well as serum albumin levels. In parallel, creatinine, international normalized ratio (INR), and bilirubin levels decreased. There was also a reduction in alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activity, along with improvements in the severity of ascites and hepatic encephalopathy, a decrease in the number of bleeding episodes, and lower CTP and MELD-Na scores. Predictors of further decompensation of cirrhosis included decreased serum sodium level, increased severity of liver injury on CT imaging, greater severity of ascites and hepatic encephalopathy, and a higher number of complications during follow-up.

Keywords: liver transplantation, HCV eradication, sustained virologic response, cirrhosis compensation, cirrhosis decompensation, independent predictors.

ВВЕДЕНИЕ

Стратегия проведения терапии, направленной на элиминацию HCV – инфекции у пациентов, ожидающих трансплантацию печени (ТП), впервые предложена Curry et al. [1]. Авторы исследования показали эффективность профилактики рецидива HCV после ТП посредством элиминации вируса комбинацией противовирусных препаратов (софосбувира и рибавирина). Элиминация HCV после терапии прямыми противовирусными препаратами прямого действия (ППППД) не только помогла предотвратить рецидив инфекции после ТП, но и обусловила улучшение функции печени, что в свою очередь привело к исключению части пациентов, ожидающих ТП, из листа ожидания (ЛО) [2, 3].

Эффективность и безопасность ППППД для лечения HCV – ассоциированного декомпенсированного цирроза печени (ЦП) были продемонстрированы у пациентов, ожидающих ТП [3–6]. Исследования SOLAR-1, SOLAR-2 и ASTRAL-4 показали высокую противовирусную эффективность фиксированной комбинации ледипасвира с софосбувиром и рибавирином и софосбувира с велпатасвиром и рибавирином или без него у пациентов с декомпенсированным ЦП [4, 7, 8]. Эти исследования также предоставили доказательства того, что эрадикация вируса у части пациентов связана со значительным улучшением показателей MELD и Child–Turcotte–Pugh (CTP).

Исследования последних лет обусловили принятие комитетом экспертов Baveno VII положения о новом понятии – рекомпенсации функции печени после элиминации этиологического фактора [9, 10]. Это положение было подтверждено как прогностически значимое явление при HBV-ассоциированном [11–14], алкогольном [15] и HCV-ассоциированном ЦП [16].

Однако эрадикация HCV у больных с декомпенсированным ЦП не всегда сопровождается снижением степени тяжести поражения печени у пациентов, ожидающих ТП. У некоторых пациентов после успешной эрадикации вируса отмечалось улучшение биохимических параметров по шкале MELD, но при этом сохранялась декомпенсация после лечения [2, 17]. Наконец, у части больных успешная

элиминация вируса сопровождается увеличением показателей MELD и CTP [16] и дальнейшей декомпенсацией ЦП [18]. Длительное наблюдение за больными с рекомпенсацией ЦП после элиминации HCV показало, что у определенной пропорции пациентов развивается редекомпенсация, требующая активной терапии [18].

Цель: исследовать показатели повреждения печени (MELD и CTP) до и после проведения терапии ПППД; после элиминации вируса охарактеризовать клинические исходы HCV-ассоциированного декомпенсированного ЦП у больных, ожидающих ТП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное когортное исследование у 320 пациентов с декомпенсированным HCV-ассоциированным ЦП, находившихся в ЛОТП в период с сентября 2018-го по август 2025 г., получивших терапию комбинацией ПППД и достигших устойчивого вирусологического ответа (УВО).

Критерии включения: показатели MELD-Na ≥15 или наличие В и С классов поражений печени по классификации CTP, осложнения ЦП [выраженный асцит, хроническая явная печеночная энцефалопатия (ПЭ), кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода (ВРВП)] с показателями плотности ткани печени при проведении эластографии печени ≥15 кПа.

Критерии исключения: гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) или любые другие опухоли, любые инфекционные заболевания, тромбоз портальной вены (ТПВ), острая печеночная недостаточность на фоне хронической («acute liver failure» – AcLF), необходимость ретрансплантации, ЦП не HCV-этиологии, возраст <18 лет.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при Ростовской областной клинической больнице (РОКБ). При включении пациентов в ЛОТП проводилось обследование, включающее лабораторные и инструментальные исследования, кратность которых зависела от состояния больных. Все данные (демографические, клинические, лабораторные и инструментальные показатели, баллы по шкалам MELD-Na и CTP) вносились в непрерывно обновляемую электронную базу данных Центра хирургии и координации донорства РОКБ, используемую для последующего анализа. Лабораторные исследования включали определение активности печеночных трансаминаз, уровня альбумина, общего билирубина, креатинина, протромбинового индекса (ПТИ), протромбинового времени (ПВ), альфа-фетопротеина (АФП), международного нормализованного отношения (МНО). Исходный балл по шкале CTP рассчитывался калькулятором (https://mdcalc.ru/ctp/calc.php) на основе ПВ, сывороточного альбумина, билирубина и клинической оценки асцита и ПЭ. Выраженность повреждения печени по шкале MELD рассчитывалась калькулятором (https://mdcalc.ru/meld/calc.php) для исходного визита и последующих визитов с использованием показателей сывороточного билирубина, Na, креатинина и МНО.

Градацию асцита (контролируемого диуретиками и резистентного к терапии диуретиками) выражали с помощью критериев экспертов International Ascites Club [21]. Диагноз асцита, резистентного к терапии диуретиками, считали вполне определенным при наличии у пациента 5–6 баллов по шкале CIRAS («**Cir**rhotic **A**scites **S**everity») [22].

Выраженность явной ПЭ (II, III–IV) оценивалась в соответствии с критериями West Haven [23].

Для оценки HCV-инфекции использовали определение вирусной нагрузки и генотипа вируса. УВО определяли в случае неопределяемого уровня РНК HCV в течение 12 недель после окончания терапии.

Инструментальные исследования включали проведение эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) в целях диагностики ВРВП в соответствии с Рекомендациями комитета экспертов Baveno VI [19] и Всемирной ассоциации гастроэнтерологов (WGO) [20] с последующим скринингом варикозных узлов (ВУ) с высоким риском кровотечения из ВРВП (узлы среднего и большого размера, нуждающиеся в проведении профилактики кровотечений).

Проводили ультразвуковое исследование органов брюшной полости, мультиспиральную компьютерную томографию или магнитно-резонансную томографию.

Исходное потребление алкоголя оценивалось как воздержание от его приема или злоупотребление (>30 г/сут для мужчин и >20 г/сут) [24]. Всем пациентам было рекомендовано воздержание от приема алкоголя с началом противовирусной терапии (ПВТ) и во время исследования.

Все исследования (клинические, лабораторные и инструментальные) проводились не позднее чем за 3 месяца до начала ПВТ ПППД, через 1 год после достижения УВО и через каждые 3–6 месяцев последующего наблюдения вплоть до 5 лет от окончания терапии. В случае развития ГЦК диагностику проводили посредством контрастных методов исследования при выявлении типичной васкуляризации и/или посредством морфологического исследования биопсионного материала.

Схемы противовирусной терапии ПППД: 85 (42,5%) больных получали софосбувир + даклатасвир, 30 (15%) – паритапревир/ритонавир/омбитасвир + дасабувир, 29 (14,5%) – софосбувир/ледипасвир, 23 (11,5%) – асунапревир + даклатасвир, 23 (11,5%) – софосбувир/велпатасвир, 3 (1,5%) – софосбувир + симепревир, 7 (3,5%) – софосбувир + риба-

вирин. Всего 88 (44%) больных получали дополнительно рибавирин. Длительность лечения составляла 12 или 24 нед.

В соответствии с рекомендациями комитета экспертов Baveno VII [9, 10] выделяли следующие исходы декомпенсированного ЦП: «рекомпенсацию» и «дальнейшую декомпенсацию» (further decompensation).

Рекомпенсация определялась в случае выполнения всех следующих критериев: этиологическое излечение (УВО); разрешение асцита (отмена диуретиков), энцефалопатии (отмена лактулозы/рифаксимина) и отсутствие варикозного кровотечения (в течение как минимум 12 месяцев); стабильное улучшение показателей функции печени (альбумин, МНО и билирубин).

Дальнейшая декомпенсация ассоциировалась с повторным или рецидивирующим развитием осложнений, связанных с заболеванием печени, таких как рецидив асцита, развитие кровотечений ВРВП или ПЭ, а также с возможным развитием новых осложнений: спонтанного бактериального перитонита (СБП) или гепаторенального синдрома с острым повреждением почек (ГРС-ОПП).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics (версия 23). Тип распределения (нормальное и отличающееся от нормального) полученных переменных величин исследуемых выборок определяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова и уровня значимости Лильефорса. В случае определения нормального типа распределения переменных величин проводили вычисление средних арифметических значений (M) и определение стандартного отклонения (SD). Значимость различий между сравниваемыми величинами определяли по t-критерию Стьюдента, используя порог значимости $p < 0,05$. В случае типа распределения, отличного от нормального, анализ переменных величин проводили посредством определения медианы (Me) с интерквартильным размахом (IQR – интервал между 25-м и 75-м процентилями).

Использовали критерий Уилкоксона, рекомендуемый в непараметрическом анализе, в целях определения значимости различий при проведении парных сравнений зависимых переменных. Расчет Хи-квадрата Пирсона использовали при проведении сравнения независимых переменных. Расчет критерия Манна–Уитни (U-критерий) использовали для сравнения переменных при выборке малого размера. В целях проведения дисперсионного анализа использовали ANOVA-тест. Таблицы сопряженности использовали для анализа качественных параметров (частот переменных и их долей в %); в случае выборок малых размеров для оценки значимости взаимосвязи между двумя переменными использовали точный тест Фишера.

Сравнительную оценку накопленных рисков в группе больных с развитием дальнейшей декомпенсации проводили с помощью математической модели пропорциональных рисков (регрессии Кокса) в однофакторном и многофакторном анализе. Рассчитывался риск наступления проверяемого события (HR) с определением 95% доверительного интервала (ДИ) для этого показателя. Качество используемой модели определялось оценкой показателя максимального правдоподобия (log-likelihood, –2LL). Проверку условия проведения многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса (отсутствие линейной связи между независимыми переменными, которая создает избыточность в модели) проводили посредством построения корреляционной матрицы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ретроспективный анализ были включены 320 пациентов обоего пола с декомпенсированным ЦП, ожидавших ТП в период с 5.08.2015 по 10.10.2025, достигших УВО вследствие проведения ПВТ ПППД в период нахождения в ЛОТП.

Как показано в табл. 1, среди включенных в анализ пациентов преобладали лица мужского пола (63,1%), с избыточной массой тела или ожирением (56,5%). Сахарный диабет (СД) был диагностирован у незначительного числа пациентов, включенных в анализ (15,6%), регулярный прием алкоголя отмечался у 14,1% обследованных. Подавляющее количество пациентов были с классом С по классификации CTP (85,3%), меньшая часть – с классом В (14,7%). Среднее значение показателя MELD-Na на начало исследования составило 21,68 ± 3,77 балла; пропорция пациентов с показателями MELD-Na в диапазоне от 15 до 17 баллов составила 10,3%, с MELD-Na от 18 до 21 балла – 33,1%, >21 балла – 56,6%.

Через 12 месяцев после достижения УВО отмечено достоверное увеличение количества лейкоцитов и тромбоцитов (табл. 2), альбумина, снижение креатинина, МНО, билирубина. Биохимический ответ характеризовался снижением активности АЛТ и АСТ. Произошло снижение выраженности асцита, ПЭ, количества кровотечений из ВРВП. Показатели CTP и MELD-Na также достоверно снизились через 12 месяцев после достижения УВО.

На рис. 1 представлена диаграмма, полученная с помощью программы Sankey (SankeyMatic.com), отражающая динамику показателей функции печени по классификации CTP у пациентов от начала терапии к 12 месяцам после достижения УВО. После эрадикации HCV снизилась пропорция больных с классом С (85,3 и 50,3% соответственно, $p < 0,001$), пропорция больных с классом В осталась неизменной (14,7% и

14,4%, p > 0,05). Отметим, что существенную пропорцию пациентов составили больные с классом А (0 и 35,3% соответственно, p < 0,001). Класс А поражения печени по CTP отсутствовал до начала терапии и образовался вследствие перехода в большей части больных из класса С, и в меньшей – из класса В.

Часть больных из градации В через 12 месяцев после достижения УВО перешла в градацию С, в свою очередь, градация В через 12 месяцев после достижения УВО пополнилась за счет больных, имевших исходно градацию В.

На рис. 2 представлена динамика показателей поражения печени по классификации MELD-Na до и после проведения ПВТ ПППД до начала и через 12 месяцев после достижения УВО. Отмечается улучшение показателей поражения печени за счет появления пропорций пациентов с меньшими градациями этого показателя в сравнении с показателями до начала терапии. Так, MELD-Na <10 баллов и MELD-Na 10–14 баллов обнаруживались через 12 месяцев после достижения УВО у 80 и 29 пациентов соответственно (25% и 9%) в сравнении с отсутствием пациентов с такими градациями этого показателя до начала терапии.

Практически вдвое уменьшилась пропорция пациентов с градациями MELD-Na 18–21 баллов (106 и 45 человек, 33 и 14% соответственно, p < 0,001) и MELD-Na >21 балла (181 и 132 человека, 56,6 и 41,25% соответственно, p < 0,05).

Соответственно критериям Baveno VII [9, 10] через 12 месяцев после достижения УВО вследствие терапии ПППД больных, ожидавших ТП в ЛО, у 113 пациентов (35,3%) развилась рекомпенсация, а у 207 пациентов (64,7%) – дальнейшая декомпенсация ЦП.

Мы провели сравнение клинико-демографических данных и параметров, отражающих состояние гомеостаза и биохимии печени в этих группах (табл. 3).

У больных с развившейся рекомпенсацией ЦП в сравнении с пациентами с дальнейшей декомпенсацией достоверно снижена выраженность поражения печени по градациям CTP и MELD-Na, снижены концентрации креатинина, билирубина, показатель МНО, активность АЛТ и АСТ, выраженность асцита, степень выраженности ПЭ, количество осложнений за период от начала терапии ПППД и до 12 месяцев после достижения УВО. В то же время при сравнении этих групп у больных с рекомпенсацией ЦП достоверно повышены количество лейкоцитов, тромбоцитов, концентраций альбумина и Na в сыворотке крови.

В целях прогнозирования риска наступления дальнейшей декомпенсации ЦП после достижения УВО вследствие проведения терапии ПППД в период ожидания ТП нами использовался анализ выживаемости («дожития»). В биомедицинских исследованиях данный вид статистического исследования используется для прогнозирования развития различных исходов – выздоровления, рецидива заболевания, летального и др. – относительно времени их возникновения [25]. Влияние независимых переменных (предикторов) на риск развития дальнейшей декомпенсации ЦП исследовали посредством использования математической регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса с расчетом риска наступления неблагоприятного события (Hazard Risk; HR) и определением 95% доверительного интервала.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в ЛО до начала проведения эрадикации HCV (базисные показатели)

Baseline characteristics of patients listed for liver transplantation prior to initiation of HCV eradication therapy

Показатели	M ± δ, или n (%)
Возраст (лет)	51,14 ± 9,1
Мужской пол	202 (63,1)
Генотип HCV	
1	190 (59,4)
2	43 (13,4)
3	87 (27,2)
Индекс массы тела (кг/м^2)	26,55 ± 4,5
Избыточная масса тела	123 (38,4)
Ожирение	69 (21,6)
СД	50 (15,6)
Регулярное употребление алкоголя	45 (14,1)
Количество эпизодов декомпенсации в прошлом (асцит, кровотечение, ПЭ, СБП, ГРС-ОПП)	
2	72 (22,5)
3	101 (31,6)
>3	112 (35)
CTP	
B класс	47 (14,7)
C класс	273 (85,3)
MELD-Na (баллы)	21,68 ± 3,8
15–17	33 (10,3)
18–20	106 (33,1)
>21	181 (56,6)
Лечение ПППД	
Софосбувир-содержащие схемы	302 (94,4)
Софосбувир + даклатасвир	121 (37,8)
Софосбувир + велпатасвир	175 (54,7)
Софосбувир + ледипасвир	6 (1,9)
Глекапревир + пибрентасвир	12 (3,8)
Элбпсвир + гразопревир)	6 (1,9)

Таблица 2

Сравнительная характеристика показателей пациентов до начала проведения терапии ПППД и через 1 год после достижения УВО (нормальное распределение и распределение, отличающееся от нормального)

Comparative analysis of patient parameters before initiation of DAA therapy and 1 year after achieving SVR (normal and non-normal distributions)

Показатель	До терапии ПППД (n = 320) M ± SD	Через 1 год после УВО (n = 320) M ± SD	p
Нормальное распределение (M ± SD)			
Лейкоциты $\times 10^9$/л	3,86 ± 1,54	4,32 ± 1,11	**0,001**
Альбумин плазмы, г/л	29,28 ± 3,39	33,88 ± 7,03	**0,001**
Креатинин, мкмоль/л	104,98 ± 20,83	99,81 ± 25,82	**0,001**
МНО	1,86 ± 0,35	1,65 ± 0,46	**0,001**
MELD-Na (баллы)	21,96 ± 3,65	17,65 ± 7,69	**0,001**
Распределение, отличающееся от нормального (Me; IQR)			
АЛТ, ед./л	89,5 (63,5–124,5)	55,5 (31,0–105,75)	**0,001**
АСТ, ед./л	89,0 (63,0–122,75)	68,0 (39,0–109,0)	**0,001**
Тромбоциты, $\times 10^9$/л	97,5 (72,0–122,0)	105,5 (77,25–135,75)	**0,001**
Билирубин, мкмоль/л	76,5 (60,0–97,0)	44,0 (25,0–71,0)	**0,001**
Na, ммоль/л	135,0 (132,0–137,0)	135,0 (132,25–138,0)	0,673
CTP (баллы)	11,0 (10,0–12,0)	10,0 (6,0–10,0)	**0,001**
Количество кровотечений из ВРВП	1,0 (0,0–2,0)	0,0 (0,0–0,0)	**0,001**
Степень асцита	2,0 (1,0–2,0)	1,0 (0,0–2,0)	**0,001**
Степень ПЭ (баллы)	2,0 (2,0–2,0)	1,0 (1,0–2,0)	**0,001**
Количество осложнений ЦП	3,0 (2,0–4,0)	2,0 (0,0–2,0)	**0,001**
Жесткость печени, кПа	29,8 (25,175–34,8)	28,35 (22,325–36,375)	0,361

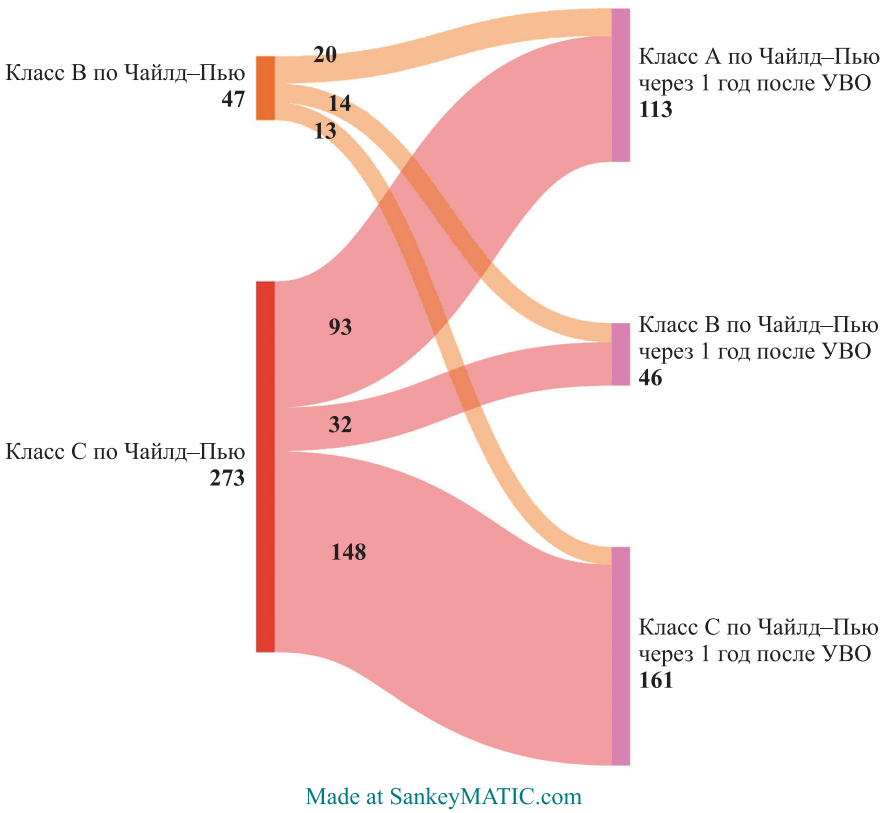


Рис. 1. Sankey-диаграмма, отражающая динамику показателей поражения печени по классификации CTP от начала терапии ПППД до 12 месяцев после достижения УВО

Fig. 1. Sankey diagram illustrating the dynamics of liver injury indicators according to the CTP classification from baseline (initiation of DAA therapy) to 12 months after achieving SVR

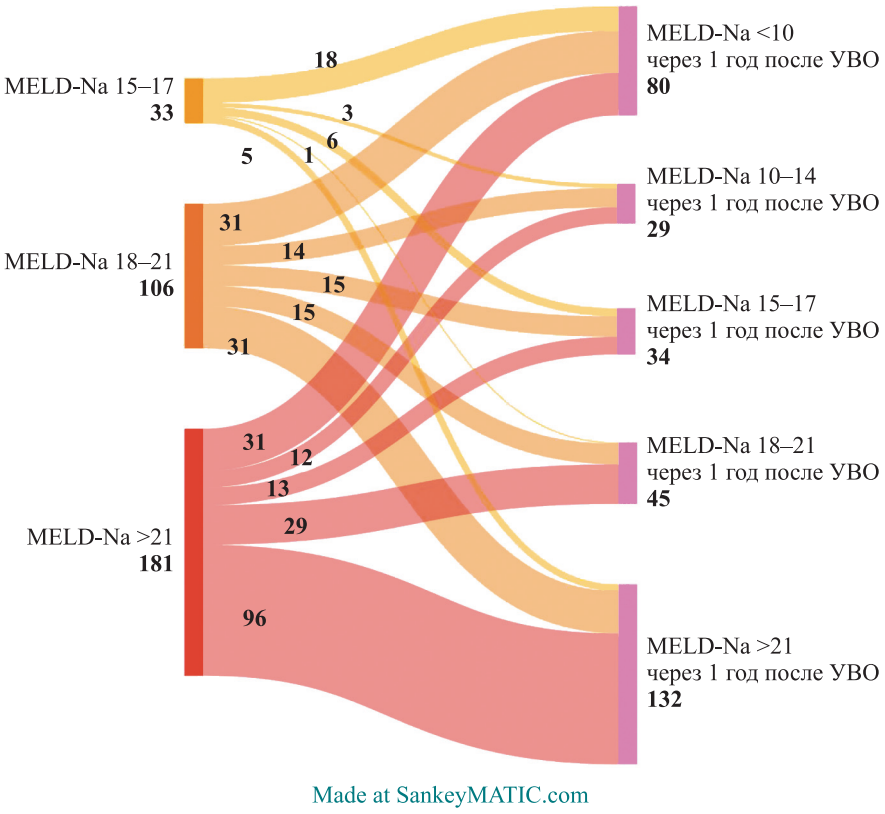


Рис. 2. Sankey-диаграмма, отражающая динамику показателей поражения печени по классификации MELD-Na от начала терапии ПППД до 12 месяцев после достижения УВО

Fig. 2. Sankey diagram illustrating the dynamics of liver injury indicators according to the MELD-Na classification from baseline (initiation of DAA therapy) to 12 months after achieving SVR

Таблица 3

Сравнительная характеристика показателей пациентов в группах рекомпенсации и дальнейшей декомпенсации ЦП через 1 год после достижения УВО (нормальное распределение и распределение, отличающееся от нормального)

Comparative analysis of patient indicators between the recompensation and subsequent decompensation groups of cirrhosis 1 year after achieving SVR, (normal and non-normal distributions)

Показатель	Рекомпенсация (n = 113) M ± SD	Дальнейшая декомпенсация (n = 207) M ± SD	p
Нормальное распределение (M ± SD)			
Возраст (количество лет)	51,56 ± 8,97	52,47 ± 9,18	0,916
Лейкоциты $\times 10^9$/л	4,57 ± 0,93	4,19 ± 1,18	**0,003**
Альбумин плазмы, г/л	38,75 ± 6,00	31,21 ± 6,07	**0,001**
Креатинин, мкмоль/л	83,72 ± 11,70	108,59 ± 27,17	**0,001**
МНО	1,27 ± 0,22	1,85 ± 0,42	**0,001**
MELD-Na (баллы)	8,85 ± 3,41	22,45 ± 4,45	**0,001**
Распределение, отличающееся от нормального (Me; IQR)			
АЛТ, ед./л	34,0 (27,0–44,0)	79,0 (39,0–139,0)	**0,001**
АСТ, ед./л	36,0 (27,0–47,5)	90,0 (61,0–143,0)	**0,001**
Тромбоциты, $\times 10^9$/л	120,0 (100,0–148,0)	97,0 (66,0–144,0)	**0,001**
Билирубин, мкмоль/л	21,0 (17,0–28,0)	60,0 (45,0–88,0)	**0,001**
Na, ммоль/л	137,0 (136,0–139,0)	134,0 (131,0–136,0)	**0,001**
CTP (баллы)	6,0 (5,0–6,0)	10,0 (10,0–11,0)	**0,001**
Количество кровотечений из ВРВП	0,0 (0,0–0,0)	0,0 (0,0–0,0)	0,837
Степень асцита	0,0 (0,0–0,0)	2,0 (1,0–2,0)	**0,001**
Степень ПЭ (баллы)	0,0 (0,0–0,0)	1,0 (1,0–2,0)	**0,001**
Количество осложнений ЦП	0,0 (0,0–0,0)	2,0 (2,0–2,0)	**0,001**
Жесткость печени, кПа	26,7 (21,65–33,25)	29,6 (22,7–37,1)	0,067

С этой целью нами применен однофакторный и многофакторный анализ математической регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса (табл. 4).

При применении однофакторного анализа (univariate analysis) создавалась модель с одной независимой переменной с вычислением отношения рисков (HR), доверительного интервала (ДИ) с оценкой значимости влияния на развитие неблагоприятного события (дальнейшей декомпенсации) для каждого предполагаемого предиктора. Все независимые переменные (предикторы), значимо влияющие на развитие дальнейшей декомпенсаци в однофакторном анализе, представлены в первой части табл. 4.

При однофакторном анализе математической регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса определены независимые переменные, значимо влияющие на развитие дальнейшей декомпенсации: более низкие уровни количества лейкоцитов и тромбоцитов, концентрации альбумина и Na в сыворотке крови, более высокие показатели билирубина, креатинина, МНО, АЛТ и АСТ, CTP и MELD-Na, более высокая выраженность асцита и ПЭ, большее количество осложнений, чем у больных с развившейся рекомпенсацией ЦП.

Многофакторный анализ (multivariate analysis) включал создание модели, предназначенной для оценки независимого вклада нескольких предикторов одновременно с определением значимости их влияния на развитие дальнейшей декомпенсации. Во второй части табл. 4 показано влияние всех действующих одновременно значимых предикторов на развитие дальнейшей декомпенсации в многофакторном анализе. Данный анализ проводили посредством метода форсированного ввода (Enter), при котором все переменные одновременно вводятся в модель. В модель многофакторного анализа были включены все статистически значимые предикторы, определенные однофакторным анализом (с учетом каждого предиктора по отдельности) [25, 26].

Как показано в табл. 4, отношение рисков (HR) >1,0 оказалось значимым для показателей концентрации Na в сыворотке крови, выраженности поражения печени по CTP, выраженности асцита и ПЭ, количества развившихся осложнений в наблюдаемый период, что позволяет рассматривать эти факторы как имеющие независимое влияние на риск развития дальнейшей декомпенсации.

Качество выбранной нами модели многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса подтверждено оценкой показателя максимального правдоподобия («log-likelihood» или –2LL). В сравнении с показателем базовой модели (Block 0) значение –2LL составило 2160,187, после введения в модель независимых переменных (предикторов) –2LL уменьшилось (1890, 285, Хи-квадрат Пирсона = 270,432) при уровне значимости 0,001. Данный анализ позволяет отвергнуть нулевую гипотезу, что на деле означает улучшение предсказательной способности модели многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса при включенных в нее независимых предикторов.

Для проверки условия (отсутствие линейной связи между независимыми переменными, которая создает избыточность в модели многофакторного регрессионного анализа пропорциональных рисков

Таблица 4

Однофакторный и многофакторный анализ предикторов, ассоциированных с развитием дальнейшей декомпенсации ЦП

Univariate and multivariate analysis of predictors associated with subsequent decompensation of liver cirrhosis

Переменные	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	HR (ДИ)	p-value	HR (ДИ)	p
Тромбоциты, $\times 10^9$/л	0,992 (0,989–0,995)	**0,001**	1,000 (0,997–1,004)	0,923
Лейкоциты $\times 10^9$/л	0,737 (0,638–0,850)	**0,001**	0,935 (0,811–1,078)	0,358
Альбумин плазмы, г/л	0,876 (0,852–0,900)	**0,001**	0,979 (0,945–1,014)	0,237
МНО	5,258 (3,986–6,937)	**0,001**	0,716 (0,393–1,304)	0,275
Билирубин, мкмоль/л	1,015 (1,012–1,018)	**0,001**	0,716 (0,393–1,304)	0,471
Креатинин, мкмоль/л	1,025 (1,02–1,03)	**0,001**	0,998 (0,990–1,007)	0,675
Na, ммоль/л	0,925 (0,857–0,953)	**0,001**	1,064 (1,124–1,532)	**0,039**
АЛТ, ед./л	1,003 (1,002–1,004)	**0,001**	0,716 (0,393–1,304)	0,225
АСТ, ед./л	1,004 (1,003–1,005)	**0,001**	1,004 (0,90–1,002)	0,205
MELD-Na (баллы)	1,142 (1,117–1,168)	**0,001**	1,071 (0,978–1,172)	0,138
CTP (баллы)	1,755 (1,615–1,907)	**0,001**	1,398 (1,003–1,128)	**0,003**
Степень асцита (баллы)	2,081 (1,816–2,385)	**0,001**	1,270 (1,052–0,848)	**0,013**
Степень ПЭ (баллы)	2,944 (2,486–3,486)	**0,001**	1,338 (1,049–1,707)	**0,019**
Количество осложнений ЦП	2,608 (2,265–3,003)	**0,001**	1,333 (1,008–1,763)	**0,044**

Кокса) мы построили корреляционную матрицу. Выявленные корреляции оказались очень слабыми (от 0,004 до 0,199) или слабыми (от 0,167 до 0,367) и средней силы выраженности (0,397 до 0,545), что не оказывает негативного влияния на применение модели [25].

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что элиминация HCV с помощью терапии ПППД у больных, ожидавших ТП, обусловила значительные изменения как в клиническом течении ЦП, так и в динамике показателей, отражающих функцию печени. Полученные результаты частично согласуются с другими исследованиями. Так, Е.А. Набатчикова и соавт. [27] провели исследования у 50 больных с декомпенсированным ЦП (41 пациент с классом В по CTP (82%), 9 (18%) – с классом С). Авторами исследования установлено снижение концентрации билирубина, активности АЛТ и АСТ, повышение альбумина после достижения УВО вследствие терапии ПППД. В эти сроки у 18 пациентов (36%) произошла компенсация ЦП по CTP (класс А), отмечалось снижение суммы баллов по CTP и индекса MELD. В отличие от цитируемого исследования в нашем исследовании исходно количество больных с классом С составляло 85,4%, а с классом В – 14,6%. Тем не менее через 12 месяцев после достижения УВО в нашем исследовании у пациентов также достоверно снизились показатели креатинина, МНО, билирубина, активности АЛТ и АСТ и достоверно повысились концентрации лейкоцитов и тромбоцитов. Мы также отметили снижение показателей CTP (суммы баллов) и MELD-Na. Как и в цитируемом выше исследовании, мы отметили существенную пропорцию пациентов с классом А (35,3%), отсутствовавшим до начала терапии и образовавшимся вследствие перехода большей части больных из класса С и в меньшей – из класса В. В нашем исследовании индекс MELD-Na исходно был значительно выше, чем в цитируемом исследовании, однако мы также отметили существенную положительную динамику этого показателя после достижения УВО вследствие эрадикации HCV.

В этой связи интересно исследование, проведенное El-Sherif et al. [28]. Авторы провели ретроспективный анализ данных четырех рандомизированных клинических исследований (РКИ) [SOLAR-1, SOLAR-2, ASTRAL-4 и GSUS-334-0125], посвященных изучению эффективности терапии софосбувир-основанными схемами у пациентов с декомпенсированным ЦП, связанным с вирусным гепатитом С (502 пациента с CTP класса В и 120 пациентов с CTP класса С), для определения факторов, связанных с рекомпенсацией, а именно снижения балла CTP до класса А. В этих исследованиях пациенты получали лечение 12 или 24 недели ледипасвиром, софосбувиром и рибавирином или велпатасвиром, софосбувиром и/или рибавирином, или 48 недель лечения софосбувиром и рибавирином. Выяснено, что наличие асцита или ПЭ, уровня сывороточного альбумина <3,5 г/дл или АЛТ <60 МЕ/л, а также индекса массы тела (ИМТ) >25 кг/м^2 были связаны с повышенным риском отсутствия снижения CTP до класса А, независимо от достижения УВО на терапию. Низкий уровень альбумина <2,8 г/дл и высокий уровень общего билирубина в сыворотке были связаны с повышенной вероятностью ТП или смерти. Авторы разработали шкалу BE3A на основе пяти исходных факторов (ИМТ, ПЭ, асцит и уровни сывороточных АЛТ и альбумина), достоверно связанных с исходами для пациентов. Для пациентов с баллами 4–5 отношение рисков (HR) снижения CTP до класса А составило 52,3 (95% ДИ: 15,2–179,7).

Наше исследование частично согласуется с исследованием, проведенным Premkumar et al. [16]. Так, авторы исследовали эффект эрадикации HCV вследствие терапии ПППД у 1152 пациентов с декомпенсированным ЦП. В отличие от нашего исследования, в котором включенные пациенты были с генотипами 1 (59,4%), 2 (13,4%) и 3 (27,2%) HCV, в данном исследовании пациенты были представлены преимущественно генотипом 3 HCV (78,2%, в меньшей степени генотипом 1 (13,4%). Генотип 2 отсутствовал (0%), оставшиеся пациенты были представлены генотипами 4–6 (8,4%). Авторы данного исследования установили, что через 12 месяцев после достижений УВО у 66,7% появился класс А CTP, отсутствовавший до начала терапии, который в большей степени образовался за счет снижения выраженности поражения печени при классе В, в меньшей – за счет класса С. Пропорция пациентов с классом С через 12 месяцев после достижения УВО в цитируемом исследовании составила 53,9%, в нашем исследовании в те же сроки – 50,3%. Пропорция пациентов с MELD <10 баллов в цитируемом исследовании составила 29,7% в указанные сроки наблюдения, в нашем исследовании MELD-Na <10 баллов – 25,0%. Однако в исследовании Premkumar et al. [16] указанная градация показателя образовалась за счет снижения в основном в группе больных с исходным уровнем MELD 10–15 баллов, в меньшей степени за счет градации показателя MELD 16–20 баллов и в еще меньшей степени за счет MELD ≥21 балла. В нашем исследовании пропорция пациентов с MELD-Na <10 баллов образовалась за счет пациентов с MELD-Na 18–21 баллов (38,75%), MELD-Na >21 балла (38,75%), и MELD-Na 15–17 баллов (22,5%).

Рекомпенсация ЦП через 12 месяцев после УВО в нашем исследовании составила 35,3% случаев, в исследовании Е.А. Набатчиковой и соавт. [27] – 36%

после эрадикации HCV, в исследовании Premkumar et al. [16] – 24,7% в среднем через 16,5 месяца после достижения УВО, в исследовании Sánchez-Torrijos et al. [29] – 63% случаев через 12 месяцев после достижения УВО.

Дальнейшая декомпенсация ЦП в нашем исследовании произошла у 64,7% через 12 недель после достижения УВО, в исследовании Premkumar et al. [16] – 75,3% случаев в среднем через 16,5 месяца после достижения УВО, в исследовании Sánchez-Torrijos et al. [29] – 37% случаев через 12 месяцев после достижения УВО.

В нашем исследовании с использованием многофакторного анализа Кокса предикторами дальнейшей декомпенсации стали более низкие уровни количества лейкоцитов и тромбоцитов, концентрации альбумина и Na в сыворотке крови, более высокие показатели билирубина, креатинина, МНО, АЛТ и АСТ, CTP и MELD-Na, более высокая выраженность асцита и ПЭ, большее количество осложнений, чем у больных с развившейся рекомпенсацией ЦП. В другом исследовании, по данным многофакторного анализа Кокса, независимыми факторами риска отсутствия компенсации ЦП были мужской пол и низкий уровень альбумина [27]. По данным Premkumar et al. [16], полученным после проведения многофакторного анализа Кокса, дальнейшая декомпенсация (прогрессия портальной гипертензии) ассоциировалась с кровотечениями из ВРВП и наличием варикозных узлов большого размера.

Какова тактика врача, ведущего ЛО пациентов – кандидатов на ТП, в связи с полученными данными о значительном улучшении функции печени после достижения УВО вследствие проведения терапии ПППД? Существуют разноречивые точки зрения. Так, Pearlman et al. [30], основываясь на своем опыте, считают, что эрадикация HCV менее чем у трети пациентов, ожидающих ТП, позволяет исключить их из ЛО. Meunier et al. [31] установили, что через пять лет наблюдения после успешного излечения 75 пациентов с циррозом, ожидавших ТП, 19 из них (25,3%) были исключены из ЛО в связи с улучшением после проведенного лечения. Прогностическими факторами исключения из ЛО были отсутствие асцита, оценка по шкале MELD ≤15 и оценка по шкале Чайлд–Пью ≤7. Другие исследователи считают, что исключение из ЛО является преждевременным, так как несмотря на развитие рекомпенсации или улучшение показателя MELD-Na, у пациентов сохраняется риск прогрессирования ГЦК и портальной гипертензии и требуется постоянное наблюдение за прогрессированием заболевания [16]. Semmler et al. [18] показали, что при долгосрочном наблюдении за пациентами после достижения УВО у 25 пациентов из 132 с рекомпенсацией декомпенсированного ЦП развилась повторная декомпенсация (редекомпенсация), у 24 – ГЦК и летальный исход. В многоцентровых исследованиях, проведенных в Европе и Северной Америке, не выявлено снижения риска развития неблагоприятных печеночных исходов (НПИ) [liver-related events – LREs] у пациентов с УВО, несмотря на улучшение показателей MELD [32, 33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, несмотря на развитие рекомпенсации и улучшение показателей функции печени, включая показатели CTP и MELD-Na, пациенты должны наблюдаться в ЛО вследствие существующего риска развития редекомпенсации, ГЦК, НПИ и летальных исходов. Необходимы дальнейшие исследования этой когорты пациентов с оценкой долгосрочного прогноза и риска развития указанных исходов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Curry MP, Forns X, Chung RT, Terrault NA, Brown R, Fenkel JM et al.* Sofosbuvir and ribavirin prevent recurrence of HCV infection after liver transplantation: An open-label study. *Gastroenterology*. 2015; 148: 100–107.e1. doi: 10.1053/j.gastro.2014.09.023.
2. *Belli LS, Berenguer M, Cortesi PA, Strazzabosco M, Rockenschaub S-R, Martini S et al.* Delisting of liver transplant candidates with chronic hepatitis C after viral eradication: A European study. *J Hepatol*. 2016; 65: 524–531. doi: 10.1016/j.jhep.2016.05.010.
3. *Nabatchikova EA, Abdurakhmanov DT, Rozina TP, Nikulkina EN, Tanaschuk EL, Moiseev SV.* Delisting and clinical outcomes of liver transplant candidates after hepatitis C virus eradication: A long-term single-center experience. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2021 Nov; 45 (6): 101714. doi: 10.1016/j.clinre.2021.101714.
4. *Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, Muir AJ, Korenblat KM, Fenkel JM et al.* ASTRAL-4 Investigators. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV in Patients with Decompensated Cirrhosis. *N Engl J Med*. 2015 Dec 31; 373 (27): 2618–2628. doi: 10.1056/NEJMoa1512614.
5. *Foster GR, Irving WL, Cheung MC, Walker AJ, Hudson BE, Verma S et al*. HCV Research, UK. Impact of direct acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *J Hepatol*. 2016 Jun; 64 (6): 1224–1231. doi: 10.1016/j.jhep.2016.01.029.
6. *Gentile I, Scotto R, Coppola C, Staiano L, Amoruso DC, De Simone T et al.* Treatment with direct-acting antivirals improves the clinical outcome in patients with HCV-related decompensated cirrhosis: results from an Italian real-life cohort (Liver Network Activity-LINA cohort). *Hepatol Int.* 2019 Jan; 13 (1): 66–74. doi: 10.1007/s12072-018-9914-6.
7. *Charlton M, Everson GT, Flamm SL, Kumar P, Landis C, Brown RS Jr et al.* SOLAR-1 Investigators. Ledipasvir

and Sofosbuvir Plus Ribavirin for Treatment of HCV Infection in Patients with Advanced Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015 Sep; 149 (3): 649–659. doi: 10.1053/j.gastro.2015.05.010.

8. *Manns M, Samuel D, Gane EJ, Mutimer D, McCaughan G, Buti M et al.* SOLAR-2 investigators. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin in patients with genotype 1 or 4 hepatitis C virus infection and advanced liver disease: a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jun; 16 (6): 685–697. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00052-9. Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2016 Jun; 16 (6): 636. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30085-8.
9. *De Franchis R, Bosch J, Garcia-Tsao G, Reiberger T, Ripoll C; Baveno VII Faculty*. Baveno VII – Renewing consensus in portal hypertension. *J Hepatol*. 2022 Apr; 76 (4): 959–974. doi: 10.1016/j.jhep.2021.12.022. Erratum in: *J Hepatol*. 2022 Jul; 77 (1): 271. doi: 10.1016/j.jhep.2022.03.024.
10. *Reiberger T, Hofer BS.* The Baveno VII concept of cirrhosis recompensation. *Dig Liver Dis*. 2023 Apr; 55 (4): 431–441. doi: 10.1016/j.dld.2022.12.014.
11. *Hui VW, Wong GL, Wong VW, Chan HL, Lai JC, Tse YK et al.* Baveno VII criteria for recompensation predict transplant-free survival in patients with hepatitis B-related decompensated cirrhosis. *JHEP Rep*. 2023 Jun 14; 5 (9): 100814. doi: 10.1016/j.jhepr.2023.100814.
12. *Zhang Y, Liu X, Li S, Lin C, Ye Q, Wang Y et al.* Risk of HCC decreases in HBV-related patients with cirrhosis acquired recompensation: A retrospective study based on Baveno VII criteria. *Hepatol Commun.* 2023 Dec 22; 8 (1): e0355. doi: 10.1097/HC9.0000000000000355.
13. *Wang Q, Zhao H, Deng Y, Zheng H, Xiang H, Nan Y et al.* Validation of Baveno VII criteria for recompensation in entecavir-treated patients with hepatitis B-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol.* 2022 Dec; 77 (6): 1564–1572. doi: 10.1016/j.jhep.2022.07.037.
14. *He Z, Wang B, Wu X, Hu Z, Zhang C, Hao Y et al.* Recompensation in treatment-naïve HBV-related decompensated cirrhosis: a 5-year multi-center observational study comparing patients with ascites and bleeding. *Hepatol Int.* 2023 Dec; 17 (6): 1368–1377. doi: 10.1007/s12072-023-10579-w.
15. *Hofer BS, Simbrunner B, Hartl L, Jachs M, Balcar L, Paternostro R et al. Hepatic* recompensation according to Baveno VII criteria is linked to a significant survival benefit in decompensated alcohol-related cirrhosis. *Liver Int.* 2023 Oct; 43 (10): 2220–2231. doi: 10.1111/liv.15676.
16. *Premkumar M, Dhiman RK, Duseja A, Mehtani R, Taneja S, Gupta E et al.* Recompensation of Chronic Hepatitis C-Related Decompensated Cirrhosis Following Direct-Acting Antiviral Therapy: Prospective Cohort Study From a Hepatitis C Virus Elimination Program. *Gastroenterology.* 2024 Dec; 167 (7): 1429–1445. doi: 10.1053/j.gastro.2024.08.018.
17. *Carrion AF, Khaderi SA, Sussman NL.* Model for end-stage liver disease limbo, model for end-stage liver disease purgatory, and the dilemma of treating hepatitis C in patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl.* 2016 Mar; 22 (3): 279–280. doi: 10.1002/lt.24383.
18. *Semmler G, Lens S, Hidalgo Á, Alonso López S, Perez-Perez M, Dajti E et al.* HCV Recompensation Study Group. Incidence and Clinical Significance of Recompensation After HCV Cure. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2025 May 14: S1542-3565(25)00414-8. doi: 10.1016/j.cgh.2025.04.026.
19. *De Franchis R; Baveno VI Faculty*. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol.* 2015; 63: 743–752. doi: 10.1016/j.jhep.2015.05.022.
20. Варикозное расширение вен пищевода. Практические рекомендации Всемирной гастроэнтерологической организации. Esophageal varices: World Gastroenterology Organization guidelines. Available from: https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/esophageal-varices-russian-2014.pdf.
21. *Moore KP, Wong F, Gines P, Bernardi M, Ochs A, Salerno F et al.* The management of ascites in cirrhosis: report on the consensus conference of the International Ascites Club. *Hepatology.* 2003; 38 (1): 258–266. doi: 10.1053/jhep.2003.50315.
22. *Gantzel RH, Aagaard NK, Vilstrup H, Watson H, Grønbaek H, Jepsen P.* Development and validation of the Cirrhotic Ascites Severity model-A patient-reported outcome-based model to predict 1-year mortality. *Hepatol Commun.* 2022 Nov; 6 (11): 3175–3185. doi: 10.1002/hep4.2065.
23. V*ilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD et al.* Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology.* 2014; 60 (2): 715–735. doi: 10.1002/hep.27210.
24. European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. *J Hepatol*. 2018 Aug; 69 (2): 461–511. doi: 10.1016/j.jhep.2018.03.026.
25. *Шарашова ЕЕ, Холматова КК, Горбатова МА, Гржибовский АМ.* Применение регрессии Кокса в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS. *Наука и здравоохранение.* 2017; 6: 5–27. *Sharashova EE, Kholmatova KK, Gorbatova MA, Grjibovski AM.* Cox regression in health sciences using SPSS software. *Nauka i zdravookhranenie [Science & Healthcare]*. 2017; 6: 5–27.
26. *Hosmer JR. DW, Lemeshow S, May S.* Applied Survival Analysis: Regression Modeling of Time-to-Event Data, Second Edition. *New York: John Wiley & Sons*, 2008. doi: 9780470258019.fmatter.
27. *Набатчикова ЕА, Абдурахманов ДТ, Розина ТП, Танащук ЕЛ, Никулкина ЕН, Никифорова НВ, Одинцов АВ.* Улучшение функции печени у больных с декомпенсированным циррозом печени после элиминации вируса гепатита С. *Клиническая фармакология и терапия.* 2019; 28 (2): 34–38. *Nabatchikova EA, Abdurakhmanov DT, Rozina TP, Tanashchuk EL,*

Nikulkina EN, Nikiforova NV, Odintsov AV. Improvement of liver function in patients with decompensated liver cirrhosis after hepatitis C virus elimination. *Clinical pharmacology and therapy.* 2019; 28 (2): 34–38. [In Russ, English abstract]. doi: 10.32756/0869-5490-2019-2-34-38.

28. *El-Sherif O, Jiang ZG, Tapper EB, Huang KC, Zhong A, Osinusi A et al.* Baseline Factors Associated with Improvements in Decompensated Cirrhosis After Direct-Acting Antiviral Therapy for Hepatitis C Virus Infection. *Gastroenterology.* 2018; doi: 10.1053/j.gastro.2018.03.022.
29. *Sánchez-Torrijos Y, Fernández-Álvarez P, Rosales JM, Pérez-Estrada C, Alañón-Martínez P, Rodríguez-Perálvarez M et al.* Prognostic implications of recompensation of decompensated cirrhosis after SVR in patients with hepatitis C. *J Hepatol.* 2025 Sep; 83 (3): 652–661. doi: 10.1016/j.jhep.2025.02.041.
30. *Pearlman BL.* Direct-Acting Antiviral Therapy for Patients with Chronic Hepatitis C Infection and Decompensated Cirrhosis. *Dig Dis Sci.* 2024 May; 69 (5): 1551–1561. doi: 10.1007/s10620-024-08393-x.
31. *Meunier L, Belkacemi M, Pageaux GP, Radenne S, Vallet-Pichard A, Houssel-Debry P et al.* Patients Treated for HCV Infection and Listed for Liver Transplantation in a French Multicenter Study: What Happens at Five Years? *Viruses.* 2022 Dec 31; 15 (1): 137. doi: 10.3390/v15010137.
32. *Krassenburg LAP, Maan R, Ramji A, Manns MP, Cornberg M, Wedemeyer H et al.* Clinical outcomes following DAA therapy in patients with HCV-related cirrhosis depend on disease severity. *J Hepatol.* 2021 May; 74 (5): 1053–1063. doi: 10.1016/j.jhep.2020.11.021.
33. *Van Velsen LM, Krassenburg LAP, Hirode G, Agarwal K, Foster GR, Cargill Z et al.* Association Between Sustained Virological Response and Adverse Liver-related Events in Patients with Decompensated Hepatitis C Virus Cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2025 Sep 15: S1542-3565(25)00796-7. doi: 10.1016/j.cgh.2025.09.006.

Статья поступила в редакцию 6.11.2025 г.
The article was submitted to the journal on 6.11.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-31-38

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Р.Н. Трушкин[1], А.А. Соколов[2], С.А. Соколов[1], Т.К. Исаев[1], А.М. Исаева[2]

[1] ГБУЗ города Москвы «Московский клинический научно-исследовательский центр – Больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

У реципиентов почечного трансплантата в разы повышены риски развития злокачественных новообразований. По ряду видов опухолей частота возникновения по сравнению с нетрансплантированной популяцией превышена в сотни раз. При этом для разных стран общая частота и структура заболеваемости раком у реципиентов почечного трансплантата сильно разнится, что связано с различными факторами риска, характерными для разных географических популяций. Данный обзор литературы посвящен изучению особенностей эпидемиологии посттрансплантационного рака, возникающего у реципиентов донорской почки, в различных странах мира.

Ключевые слова: трансплантированная почка, злокачественные новообразования, эпидемиология.

EPIDEMIOLOGY OF MALIGNANT TUMORS IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS (A LITERATURE REVIEW)

R.N. Trushkin[1], A.A. Sokolov[2], S.A. Sokolov[1], T.K. Isaev[1], A.M. Isaeva[2]

[1] Moscow Clinical Research Center – Hospital No. 52, Moscow, Russian Federation
[2] Central Clinical Hospital with Outpatient Clinic, Moscow, Russian Federation

Kidney transplant recipients face a significantly higher risk of developing malignant tumors. For certain tumor types, incidence rates are hundreds of times higher than in the non-transplant population. Overall cancer incidence and patterns vary significantly across countries, reflecting geographically specific risk factors. This literature review examines the epidemiological characteristics of post-transplant malignancies occurring in kidney transplant recipients worldwide.

Keywords: kidney transplant, malignant neoplasms, epidemiology.

ВВЕДЕНИЕ

У реципиентов солидных органов отмечается повышенная заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО), что связано с действием специфических факторов, которые отсутствуют в нетрансплантированной популяции [1–3]. У 0,95–23% реципиентов почечного трансплантата развивается посттрансплантационный рак (ПТР) [4, 5], что соответствует как минимум 4-кратному повышению рисков возникновения ЗНО по сравнению с пациентами того же возраста и пола общей популяции [5]. При этом для ряда видов новообразований, например плоскоклеточного рака кожи или саркомы Капоши, частота возникновения превышает десятки и сотни раз [5]. Также известно, что у трети реципиентов почечного трансплантата с уже выявленным ПТР возникает и второй вид ЗНО [6]. При изучении мировой литературы обращает на себя внимание большая разнородность данных относительно общей частоты возникновения ПТР и самой структуры заболеваемости ЗНО, отличающихся не только между различными континентами, но и странами. Данная статья посвящена особенностям эпидемиологии злокаче-

Для корреспонденции: Соколов Александр Александрович. Адрес: 121359, Москва, ул. Маршала Тимошенко, д. 15. Тел. (985) 492-35-77. E-mail: salexdoc@gmail.com

Corresponding author: Alexander Sokolov. Address: 15, Marshala Timoshenko str., Moscow, 121359, Russian Federation. Phone: (985) 492-35-77. E-mail: salexdoc@gmail.com

ственных новообразований, возникающих у реципиентов почечного трансплантата.

СТРАНЫ ЕВРОПЫ

В европейских странах проведен ряд исследований, направленных на изучение частоты и структуры посттрансплантационного рака у реципиентов солидных органов, в том числе и почки. В 2022 году T.K. Friman et al. опубликовали данные 30-летнего популяционного когортного исследования в Финляндии, направленного на определение заболеваемости раком после трансплантации солидных органов, согласно которому у 23% всех реципиентов был выявлен ПТР. Результаты были получены путем сопоставления данных Helsinki University Hospital's (единственный в Финляндии центр трансплантации) и финского онкологического регистра. При этом общий стандартизированный коэффициент заболеваемости (SIR) для всех видов ЗНО составил 3,6, а более половины случаев (53%) составлял немеланомный рак кожи (НМРК). Для всех видов ЗНО самый высокий SIR был отмечен для реципиентов сердца (5,0), а самый низкий – для реципиентов печени (2,7). Наиболее распространенными видами опухоли после немеланомного рака кожи была неходжкинская лимфома (8,82%, SIR 9,9) и почечно-клеточный рак (ПКР) (5,24%, SIR 7,3). Также следует отметить, что совокупный риск развития ЗНО (без учета НМРК) составил 5,2; 10,8; 16,3 и 20,5% через 5, 10, 15 и 20 лет после трансплантации соответственно [4].

Если предыдущее исследование не являлось избирательным для реципиентов почечного трансплантата (РПТ) и включало все случаи трансплантации солидных органов и детскую трансплантацию, то в 2020 году H. Benoni et al. представили результаты работы, посвященной целенаправленному изучению заболеваемости ПТР у реципиентов почечного трансплантата четырех скандинавских стран. Основой для исследования послужили обобщенные данные национальных регистров Швеции, Норвегии, Дании и Финляндии, показавшие более чем трехкратное повышение заболеваемости ЗНО для РПТ по сравнению с нетрансплантированной популяцией. Пяти- и десятилетняя кумулятивная заболеваемость любым видом рака составила 8,1 и 16,8% соответственно. Таким образом, примерно у каждого шестого РПТ в течение десяти лет развился рак. Самые высокие риски наблюдались в отношении НМРК (53,7%, SIR 35,9), неходжкинской лимфомы (9,29%, SIR 7,59), рака легких (8,07%, SIR 2,88) и ПКР (7,82%, SIR 7,65) [5].

В Германии на данную тему выполнено три исследования. В 2007 году C.D. Wimmer с коллегами из Transplantation Center Munich сообщили о частоте заболеваемости ПТР у реципиентов почечного трансплантата в 21%, при этом средний период наблюдения составил 9,5 года, а в количественном отношении наиболее частыми опухолями был НМРК (20,5%) и ПКР (12,0%) [7]. Согласно результатам ретроспективного одноцентрового исследования, проведенного в Erlangen-Nuremberg kidney transplantation center и опубликованного H. Apel et al. в 2013 году, общая частота ПТР у реципиентов почечного трансплантата составила 13,7% при среднем периоде наблюдения в 9,9 года, что соответствовало 12,1-кратному увеличению общего риска развития ЗНО неэпителиального происхождения по сравнению с населением, не подвергавшимся трансплантации. Среди опухолей солидных органов наиболее часто встречался ПКР (32,1%), рак желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (30,7%) и рак матки (14%) [8]. Третье исследование также выполнено ретроспективно и опубликовано в 2020 году F.A. Frohlich с коллегами из Universitätsmedizin Charité Berlin, согласно которому общая частота ЗНО у РПТ составила 12,19%, а наиболее частыми видами опухолей (НМРК исключен из статистики) являлись ПКР (27,4%), рак ЖКТ (16,8%) и мочевыделительной системы (13,4%). При этом авторы отмечают, что частота обнаружения ПТР, локализованного в солидных органах, повышается в среднем на 1% в год от момента АТП [8].

Одноцентровое ретроспективное исследование, проведенное в Польше в Medical University of Lodz и опубликованное в 2025 году W. Ciesielski et al., показало общую частоту ПТР у реципиентов почечного трансплантата, равную 11,68%, а из всех ЗНО в 50% случаев обнаружен НМРК, в 18,75% выявлены посттрансплантационные лимфопролиферативные заболевания (ПТЛЗ), в 12,5% диагностирован ПКР, при этом медиана наблюдения от момента АТП до завершения исследования составила 9,5 года [9].

В Италии для изучения заболеваемости ЗНО у РПТ выполнено 4 одноцентровых и одно популяционное исследование. В 2015 году A. Rossetto с коллегами из University Hospital of Udine получили общую частоту новообразований у РПТ 9,28% (были исключены гематологические опухоли и НМРК). Из выявленных *de novo* солидных опухолей 29,68% составил ПКР, 26,56% – рак ЖКТ, 12,5% – меланома [10]. В 2017 году V. Mazzucotelli et al. из ASST Spedali Civili, Brescia сообщили об общей частоте ПТР 10,2%, однако из исследования также был исключен немеланомный рак кожи. Согласно полученным данным, 17,33% составили ПТЛЗ и 16% – саркома Капоши [11]. R. Gioco et al. в 2019 году опубликовали результаты исследования, обобщив все случаи ЗНО у реципиентов почечного трансплантата в University Hospital of Catania при средней продолжительности наблюдения в 7,8 года. Общая частота развития ПТР составила 7,2%, а самый высокий показатель заболеваемости был характерен для НМРК (23,7%) [12]. В исследовании G.V. Sarto et al. от 2024 года,

проведенном в Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Policlinico Maggiore, Milan, у 19% РПТ выявлено хотя бы одно ЗНО, а наиболее распространенной опухолью был немеланомный рак кожи, который составил 55% от всех выявленных опухолей, при этом второй рак возник у 32,7% реципиентов в среднем через 122 месяца после АТП [6]. Крупное популяционное исследование, обобщившее 25-летний опыт 17 итальянских центров трансплантации почки, завершили в 2023 году P. Piselli et al. В ходе данной работы фиксировались все случаи выявленного у РПТ *de novo* рака, а общая частота ПТР составила 13%, что эквивалентно 2,3-кратному повышению риска развития рака по сравнению с нетрансплантированной популяцией. Наиболее распространенным типом рака был немеланомный рак кожи (43,4%, SIR 7,16), за которым следовали ПТЛЗ (7,83%, SIR 2,76), ПКР (6,5%, SIR 5,35), саркома Капоши (6,01%, SIR 75,76) и рак предстательной железы (6,01%, SIR 1,12) [13].

Несколько исследований для изучения заболеваемости ЗНО реципиентов почечного трансплантата проведено в Великобритании. Так, D. Collett et al. сравнили данные UK Transplant Registry из NHS Blood and Transplant с регистрами онкологических пациентов Англии, Шотландии и Уэльса и получили общую частоту ПТР 17,6% при медиане наблюдения в 16 лет. Заболеваемость ЗНО у РПТ в течение 10 лет была в два раза выше, чем у населения в целом, а НМРК, который являлся самым распространенным, в 13 раз выше [14]. J.P. O'Neill et al. в 2019 году провели исследование заболеваемости ЗНО у реципиентов солидных органов (71,2% из них составили АТП) в Ирландии на основании данных National Cancer Registry of Ireland (NCRI) и The Irish Transplant Cancer Group database и сообщили, что наиболее распространенными видами рака у всех реципиентов трансплантатов были НМРК (SIR 20,05), неходжкинская лимфома (SIR 6,23) и ПКР (SIR 3,36) [15]. Второе исследование на основании вышеописанных баз данных Ирландии в 2023 году завершили E. Conlon et al., однако в данной работе акцент был сделан на изучение заболеваемости раком кожи, частота которого составила 12,8% от всех реципиентов, а в большинстве случаев областью локализации являлась голова и шея [16].

В Греции G. Zavos et al. из Laiko General Hospital провели одноцентровое когортное исследование РПТ и получили частоту ПТР в 9,7%, при этом из них у 37,7% отмечен немеланомный рак кожи, 37,2% составили опухоли внутренних органов, 13,1% – ПТЛЗ и 12,1% – саркома Капоши [17].

По результатам ретроспективного когортного исследования N. Basic-Jukic et al., посвященного изучению заболеваемости раком кожи, в University Hospital Center Zagreb в 2022 году распространенность НМРК у реципиентов почечного трансплантата Хорватии составила 6,81%, из которых в 60,7% случаев развилась базальноклеточная карцинома, а в 20,9% обнаружен плоскоклеточный рак кожи, при этом оба вида опухоли возникли у 8,3% реципиентов с выявленным ПТР [18].

СТРАНЫ АЗИИ

В странах Азии отмечена большая разнородность данных относительно общей частоты и структуры заболеваемости ПТР у реципиентов почечного трансплантата. В Гонконге C.Y. Cheung et al. на основании данных Renal Registry of the Hospital Authority, затрагивающих 90–95% всех РПТ, установили, что общая частота возникновения ПТР для данной популяции составила 6,1%, а стандартизированный коэффициент заболеваемости для всех видов рака составил 2,94, при этом для женщин он был выше, чем для мужчин, 3,58 и 2,58 соответственно. Наиболее распространенным видом ЗНО являлась неходжкинская лимфома (20,96%, SIR 15,79), за ней следовали колоректальный рак (9,69% SIR 1,75), рак легких (9,69% SIR 1,68), ПКР (8,69% SIR 12,5), немеланомный рак кожи (7,35% SIR 7,38) и рак печени (6,68% SIR 2,53). Следует отметить, что для неходжкинской лимфомы самый высокий риск возникновения был в течение первого года от АТП (SIR 859,38), а затем снижался: 1–5 лет (SIR 53,85), 5–10 лет (SIR 14,29), 10–15 лет (SIR 9,88), 15–20 лет (SIR 3,64) [19].

На Тайване проведено несколько исследований, показавших высокую распространенность у РПТ уротелиального рака. В 2004 году M.J. Wu et al. из Taichung Veterans General Hospital при среднем периоде наблюдения от АТП 72,2 месяца у 8,6% РПТ выявили ЗНО, из них в 47,67% случаев диагностирован уротелиальный рак, который в 36,7% был синхронным и двусторонним [20]. Схожие результаты получены в 2007 году в одноцентровом исследовании W.W. Feng et al. из E-Da Hospital/I-Shou University, согласно которым, ПТР обнаружен у 8,83% РПТ, что соответствовало увеличению заболеваемости ЗНО в 4,6 по сравнению с нетрансплантированной популяцией. Наиболее часто встречались уротелиальный и гепатоцеллюлярный рак, составившие 51,98 и 20,05% соответственно [21]. Следует отметить опубликованные в 2020 году данные исследования C.C. Yeh et al., которые выполнили анализ злокачественных новообразований *de novo*, основываясь на данных National Health Insurance Research Database Тайваня, и выявили частоту ПТР в 9,3% для реципиентов почечного трансплантата. Однако в данной работе изучались особенности ЗНО, возникшие не только у реципиентов почки, но и сердца или печени. Так, согласно полученным результатам, у реципиентов почечного трансплантата риск развития уротелиального рака был увеличен в 31,4 раза, ПКР – в 37,3 раза, а неходжкинской лимфомы – в 3,6 раза. В отличие от этого у реципиентов донорского сердца наиболь-

шим риском обладают немеланомный рак кожи (в 5,8 раза), неходжкинская лимфома (в 5,4 раза) и рак легкого (в 2,6 раза), а у реципиентов печени – лимфатико-гемопоэтическая злокачественная опухоль (в 4,5 раза) и рак желудка (в 3 раза) [22].

Несколько исследований, проведенных в Китае, показали достаточно низкую общую заболеваемость ПТР и высокую распространенность уротелиального рака. Так, согласно исследованию X.B. Li из Beijing Chaoyang Hospital, общая частота ЗНО у РПТ составила 4,55%, из которых в 41,5% случаев выявлен уротелиальный рак [23]. B. Wu et al. провели в 2015 году в Tianjin First Central Hospital одноцентровое ретроспективное исследование и получили общую частоту ПТР в 0,95%, что является не только самой низкой зафиксированной частотой ЗНО у РПТ в азиатском регионе, но и в мире. Наибольшая частота отмечена для уротелиального рака, составившего 57% от общего числа случаев опухолей [24]. Высокую заболеваемость РПТ уротелиальным раком и общую низкую частоту ПТР продемонстрировало и исследование Q. Sun с коллегами из Jinling Hospital, Nanjing University, которое выявило частоту ЗНО после АТП в 2,4% [25]. Частоту ЗНО в 5,17% у РПТ получили J. Zhang et al. из Beijing Friendship Hospital, а наиболее распространенной опухолью традиционно стал уротелиальный рак [26].

Для Таиланда наиболее распространенным видом посттрансплантационного рака также являлся уротелиальный рак [27–30]. S. Laowalert et al. на базе Praram 9 Hospital, Bangkok, в 2024 году завершили одноцентровое когортное исследование, направленное на изучение РПТ, и получили общую частоту ЗНО в 7,87%, из которых самым распространенным был уротелиальный рак (31,9%), обладающий самым высоким стандартизированным коэффициентом заболеваемости (SIR 42,5) по сравнению с общей популяцией. Второе место по частоте занял гепатоцеллюлярный рак (14,3%, SIR 2,1), а третье – НМРК (9,9%, SIR 7,71). Стоит отметить, что почечно-клеточный рак, выявленный в 8,8%, имел второе место по показателю SIR, равному 24,4 [29]. Второе одноцентровое исследование, проведенное P. Srisuwarn et al. на основании данных в Ramathibodi Hospital также в 2024 году, выявило, что частота развития ЗНО у РПТ составила 6,2%, а SIR для всех видов рака – 3,85. Наибольшим риском, как и в предыдущем исследовании, характеризовался уротелиальный рак (22,4%), особенно у женщин с SIR = 114,7 (для мужчин SIR = 17,5). Далее следовали неходжкинская лимфома (22%) и НМРК (16%), стандартизированный коэффициент заболеваемости для которых составил 20,3 и 24,7 соответственно, при этом у 6% пациентов развился вторичный рак [30].

В Южной Корее проведено два одноцентровых и два популяционных когортных исследования. M.K. Ju et al. из Yonsei University College of Medicine по данным одноцентрового исследования сообщили о частоте ПТР в 6,73%, а наиболее распространенными были НМРК (18,4%), рак щитовидной железы (13,2%), ЖКТ (11,6%), колоректальный (11,6%) и уротелиальный рак (10,0%) [31]. Используя данные Seoul St. Mary's Hospital, J.K. Hwang et al. из The Catholic University of Korea провели исследование и получили общую частоту ПТР у реципиентов почечного трансплантата в 8,02%, а наиболее распространенным являлся рак ЖКТ. Однако после разделения всех РПТ с выявленным ЗНО в зависимости от длительности периода от АТП получены данные о нарастании заболеваемости ПТР при увеличении длительности наблюдения, так, совокупная заболеваемость раком в течение 1, 5, 10, 20 и 30 лет от трансплантации составила 0,64; 2,42; 7,89; 21,49 и 66,35% соответственно [32]. Первое ретроспективное общенациональное популяционное исследование выполнено в 2019 году B. Park et al. На основании данных Health Insurance Review and Assessment получены сведения о частоте всех ЗНО у реципиентов почечного трансплантата, равной 4%, что составило SIR 3,19, а наиболее распространенным являлся рак щитовидной железы (15,48%), ПКР (12,47%) и рак ЖКТ (12,25%) [33]. Второе популяционное исследование на основании вышеописанной национальной базы данных проведено S. Jeong et al. в 2020 году и показало частоту ПТР в 6%, а стандартизированный коэффициент заболеваемости для рака всех локализаций составил 3,9. Чаще всего встречались рак щитовидной железы (14,2%), колоректальный рак (11,2%), ПКР (10,7%) и рак желудка (8,9%), а риски саркомы Капоши и ПКР были более чем в 10 раз выше, чем в общей популяции [34].

В Сингапуре S.H. Teo et al. сопоставили данные Singapore General Hospital и National Registry of Diseases Office и сообщили о частоте ПТР у реципиентов почечного трансплантата в 1, 4 и 10% через год, пять и десять лет соответственно. Наиболее распространенными типами ЗНО были ПТЛЗ (29,0%), ПКР (19,4%), колоректальный рак (9,7%) [37].

R. Imamura et al. в Японии проанализировали данные Osaka University Hospital, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital и Osaka General Medical Center и выявили, что через 5, 10 и 20 лет частота ПТР после АТП составила 2,5; 7,5 и 19,4% соответственно, а самыми распространенными были ПТЛЗ (13,3%), рак кожи (11,5%), рак молочной железы и ПКР, составившие по 10,07%. При этом при сравнении совокупной заболеваемости в двух группах до 2000 года и после 2001 года SIR был значительно выше в группе после 2001 года [36]. Результаты масштабного исследования S. Kanno et al. от 2025 года, посвященного изучению ПТР у реципиентов почечного трансплантата в Японии, также продемонстрировали, что наиболее

частой локализацией рака как у мужчин, так и у женщин были ПТЛЗ, саркома Капоши и ПКР [37].

СТРАНЫ СЕВЕРНОЙ И ЮЖНОЙ АМЕРИКИ

Для стран Северной Америки общая частота ПТР у реципиентов почечного трансплантата также ниже, чем в Европе, и больше соответствовала Азии. Так, в Канаде D.E. Schaubel et al. изучили Canadian Organ Replacement Register и сообщили о частоте ЗНО после АТП 7,04%, что аналогично повышению риска развития рака в 2,5 раза по сравнению с нетрансплантированной популяцией. Наиболее распространенными видами опухоли (из исследования исключен НМРК) являлись неходжкинская лимфома (16,06%) и рак легких (13,88%), а наиболее высокие значения SIR наблюдались при раке губы (SIR 31,3), неходжкинской лимфоме (SIR 8,8) и ПКР (SIR 7,3) [38]. В Квебеке R. Sapir-Pichhadze et al. из McGill University и Université de Montréal получили частоту ЗНО у РПТ 10,2% за период наблюдения, составивший в среднем 73 месяца [39].

В Соединенных Штатах Америки было проведено несколько исследований, основанных на U.S. National Transplant Database, включающих более 100 000 реципиентов почечного трансплантата, в которых проанализирована частота ЗНО. Согласно M.S. Sampaio et al. из Mendez National Institute of Transplantation, частота возникновения ПТР после АТП равнялась 8,03%, а самая высокая заболеваемость отмечена для ПТЛЗ (19,67%), рака легких (13,94%), предстательной железы (10,21%) и ПКР (9,83%) [40]. E.A. Engels с коллегами из National Cancer Institute сообщают о частоте ПТР в 6,06%, а SIR для всех видов опухолей составил 2,1. Данное исследование сравнивает между собой все виды трансплантации солидных органов. Следует отметить, что риск рака легких был наиболее повышен у реципиентов легких (SIR = 6,13), но также был увеличен и у реципиентов сердца (SIR = 2,67), печени (SIR = 1,95) и почек (SIR = 1,46). Риск рака печени был повышен только среди реципиентов печени (SIR = 43,83), при этом наибольший риск отмечен в первые 6 месяцев от момента трансплантации (SIR = 508,97), а в последующие 10–15 лет после этого присутствовал лишь 2-кратный избыточный риск (SIR = 2,22). Наибольший риск развития ПКР отмечен у РПТ (SIR = 6,66), однако также был повышен и у реципиентов сердца (SIR = 2,90) и печени (SIR = 1,80) [2]. В 2021 году C.D. Blosser et al. на основании вышеописанной базы и данных 18 онкологических регистров рассчитывают частоту ЗНО после АТП в 3,34%, при этом отмечая, что SIR для всех видов рака снижается при сравнении периодов АТП с 1,57 в 1987–1996 гг. до 1,28 в 2007–2016 гг. [41]. Интересно также исследование J. Tao et al., связавших данные U.S. National Transplant Database с 34 онкологическими регистрами. Работа была посвящена изучению онкологических рисков у реципиентов трансплантатов солидных органов различных категорий населения США. Частота ПТР у коренного населения составила 9,88%, азиатов – 5,63%, а жителей островов Тихого океана – 5,35%, при этом наиболее распространенным видом опухоли был немеланомный рак кожи, составивший 51,25% [42]. Два исследования для оценки риска возникновения конкретных видов опухолей у реципиентов солидных органов выполнили M.R. Sargen et al. В первом определялась заболеваемость некератиноцитарными видами рака кожи, частота которых составила 0,54% от всего числа реципиентов солидных органов. Из них самым распространенным видом являлась меланома (61,8%), далее шли карцинома Меркеля (14%), саркома Капоши (7,8%), себорейная карцинома (7,1%) и кожные лимфомы (4,5%). Риск был наиболее повышен для видов рака, связанных с вирусами, таких как саркома Капоши (SIR 20,5) и карцинома Меркеля (SIR 16,2), а в 39,4% случаев опухоли располагалась на голове и шее [43]. Вторая работа M.R. Sargen et al. посвящена рискам развития карциномы сальных желез, редкого вида рака кожи, связанного с синдромом Мьюира–Торре. При анализе данных Transplant Cancer Match Study в США у 301 075 реципиентов диагностированы 102 карциномы сальных желез, что соответствует 25-кратному увеличению заболеваемости (SIR 24,8), а наибольшие риски наблюдаются после постановки диагноза «плоскоклеточный рак кожи» после трансплантации (SIR 104) [44]. Схожее исследование опубликовано в США M.D. Arcy et al. в 2021 году, согласно которому у реципиентов отмечается повышение рисков 33 видов рака, являющихся крайне редкими для нетрансплантированной популяции. В их число входят карцинома Меркеля (SIR 24,7), плоскоклеточный рак губы (SIR 19,8), рак глаза (SIR 13,8), слюнной железы (SIR 9,3), рак полости носа и придаточных пазух (SIR 4,5), аденокарцинома сальных желез (SIR 34,3) и злокачественная фиброзная гистиоцитома (SIR 15,4) [1].

В Мексике E. Leon-Rodriguez с коллегами из Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutricion Salvador Zubiran сообщили о 8% злокачественных новообразований у РПТ. При этом относительный риск развития рака у мужчин и женщин, перенесших трансплантацию почки, был в 4,6 и 3,5 раза выше, чем риск развития рака у населения в целом. Наиболее распространенным злокачественным новообразованием был НМРК, составивший более половины от всех случаев (52%) [45]. Изучению эпидемиологии данного вида рака посвятили свое исследование A. Malagón-Liceaga et al., которые получили частоту НМРК у РПТ 6,6% при среднем периоде наблюдения 9,8 года [46].

АВСТРАЛИЯ И НОВАЯ ЗЕЛАНДИЯ

Популяционное когортное исследование с участием более чем 28 тысяч пациентов, направленное на изучение заболеваемости ПТР у реципиентов почечного трансплантата, выполнено C.M. Vajdic et al. В ходе исследования сравнивали данные Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry и The Australian National Cancer Statistics Clearing House и получили увеличение частоты ЗНО у РПТ в 3,27 раза по сравнению с нетрансплантированной популяцией. При этом у пациентов, страдающих терминальной формой ХБП и получающих лечение диализом, заболеваемость раком выросла лишь незначительно (SIR 1,35) [47].

ОБСУЖДЕНИЕ

Кумулятивная заболеваемость раком через 15 лет от момента АТП в среднем составляет от 10 до 15%, а общий риск возникновения ЗНО у данных пациентов как минимум в 2–3 раза превышает соответствующие риски для нетрансплантированной популяции, при этом частота возникновения определенных видов рака может быть повышена в десятки и сотни раз.

Общая частота развития ЗНО и структура заболеваемости у реципиентов почечного трансплантата различается в зависимости от региона проживания. При анализе исследований для Европы и Северной Америки отмечается совпадение стандартизированных коэффициентов заболеваемости для различных видов ЗНО. В отличие от этого для азиатской популяции по сравнению с европейской и американской отмечается разница в общем риске возникновения рака (частота которого, как правило, не превышает 10%) и в видах опухолей с наибольшими рисками развития.

Следует отметить, что присутствуют различия в частоте конкретных видов рака у РПТ в зависимости от географического положения. Так, для реципиентов из Европы, Северной Америки, Австралии и Новой Зеландии наиболее распространенным типом рака является немеланомный рак кожи, который достигает половины от всех случаев ЗНО, а для азиатских стран отмечена высокая частота уротелиального рака. Для стран Европы также характерна высокая распространенность ПКР и рака ЖКТ в отличие от стран Америки, в которых вторым по встречаемости являются ПТЛЗ. Помимо этого, присутствуют отличия в структуре заболеваемости ЗНО у реципиентов почечного трансплантата из разных стран одного региона, что, вероятнее всего, связано с влиянием факторов, специфичных для данной области проживания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У реципиентов почечного трансплантата значительно повышены риски развития злокачественных новообразований по сравнению с нетрансплантированной популяцией, а по ряду видов опухолей они могут повышаться в сотни раз. При этом для разных стран общая частота и структура заболеваемости раком сильно разнится, что, вероятнее всего, связано с различными факторами риска, характерными для разных географических популяций.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *D'Arcy ME, Castenson D, Lynch CF, Kahn AR, Morton LM, Shiels MS et al.* Risk of Rare Cancers Among Solid Organ Transplant Recipients. *J Natl Cancer Inst.* 2021 Feb 1; 113 (2): 199–207. doi: 10.1093/jnci/djaa078. PMID: 32462187; PMCID: PMC7850530.
2. *Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF Jr, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ et al.* Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA.* 2011 Nov 2; 306 (17): 1891–1901. doi: 10.1001/jama.2011.1592. PMID: 22045767; PMCID: PMC3310893.
3. *Pyrża M, Małyszko J, Głogowski T, Wieliczko M, Żebrowski P, Małyszko J.* Kidney Transplant Recipients Have Higher Malignancy Prevalence Than Hemodialyzed Patients. *Transplant Proc.* 2022 May; 54 (4): 972–975. doi: 10.1016/j.transproceed.2022.01.018. Epub 2022 Mar 10. PMID: 35282885.
4. *Friman TK, Jäämaa-Holmberg S, Åberg F, Helanterä I, Halme M, Pentikäinen MO et al.* Cancer risk and mortality after solid organ transplantation: A population-based 30-year cohort study in Finland. *Int J Cancer*. 2022 Jun 1; 150 (11): 1779–1791. doi: 10.1002/ijc.33934. Epub 2022 Feb 3. PMID: 35041762; PMCID: PMC9306582.
5. *Benoni H, Eloranta S, Dahle DO, Svensson MHS, Nordin A, Carstens J et al.* Relative and absolute cancer risks among Nordic kidney transplant recipients-a population-based study. *Transpl Int.* 2020 Dec; 33 (12): 1700–1710. doi: 10.1111/tri.13734. Epub 2020 Sep 25. PMID: 32896035; PMCID: PMC7756726.
6. *Re Sartò GV, Alfieri C, Cosmai L, Brigati E, Campise M, Regalia A et al.* Post-Kidney Transplant Cancer: A Real-World Retrospective Analysis From a Single Italian Center. *Transpl Int.* 2024 Aug 20; 37: 13220. doi: 10.3389/ti.2024.13220. PMID: 39228659; PMCID: PMC11368674.
7. *Wimmer CD, Rentsch M, Crispin A, Illner WD, Arbogast H, Graeb C et al.* The janus face of immunosuppression – *de novo* malignancy after renal transplantation: the experience of the Transplantation Center Munich. *Kidney Int.* 2007 Jun; 71 (12): 1271–1278. doi: 10.1038/sj.ki.5002154. Epub 2007 Feb 28. PMID: 17332737.
8. *Apel H, Walschburger-Zorn K, Häberle L, Wach S, Engehausen DG, Wullich B. De novo* malignancies in renal transplant recipients: experience at a single center with 1882 transplant patients over 39 yr. *Clin Transplant.* 2013 Jan-Feb; 27 (1): E30–E36. doi: 10.1111/ctr.12050. Epub 2012 Dec 27. PMID: 23278453.

9. *Ciesielski W, Frąk W, Gmitrzuk J, Kuczyński P, Klimczak T, Durczyński A et al.* The assesement of the long-term effects of kidney transplantation, including the incidence of malignant tumors, in recipients operated on between 2006 and 2015 – a cohort study and literature review. *Pol Przegl Chir*. 2025 Jan 22; 97 (2): 1–9. doi: 10.5604/01.3001.0054.9677. PMID: 40247787.
10. *Rossetto A, Tulissi P, De Marchi F, Gropuzzo M, Vallone C, Adani GL et al. De novo* Solid Tumors After Kidney Transplantation: Is It Time for a Patient-Tailored Risk Assessment? Experience From a Single Center. *Transplant Proc*. 2015 Sep; 47 (7): 2116–2120. doi: 10.1016/j.transproceed.2015.01.029. PMID: 26361657.
11. *Mazzucotelli V, Piselli P, Verdirosi D, Cimaglia C, Cancarini G, Serraino D et al. De novo* cancer in patients on dialysis and after renal transplantation: north-western Italy, 1997–2012. *J Nephrol.* 2017 Dec; 30 (6): 851–857. doi: 10.1007/s40620-017-0385-y. Epub 2017 Mar 19. PMID: 28317077.
12. *Gioco R, Corona D, Agodi A, Privitera F, Barchitta M, Giaquinta A et al. De novo* Cancer Incidence and Prognosis After Kidney Transplantation: A Single Center Analysis. *Transplant Proc.* 2019 Nov; 51 (9): 2927–2930. doi: 10.1016/j.transproceed.2019.04.096. Epub 2019 Oct 10. PMID: 31607617.
13. *Piselli P, Serraino D, Cimaglia C, Furian L, Biancone L, Busnach G et al.* Variation in Post-Transplant Cancer Incidence among Italian Kidney Transplant Recipients over a 25-Year Period. *Cancers (Basel).* 2023 Feb 20; 15 (4): 1347. doi: 10.3390/cancers15041347. PMID: 36831688; PMCID: PMC9954633.
14. *Collett D, Mumford L, Banner NR, Neuberger J, Watson C.* Comparison of the incidence of malignancy in recipients of different types of organ: a UK Registry audit. *Am J Transplant*. 2010 Aug; 10 (8): 1889–1896. doi: 10.1111/j.1600-6143.2010.03181.x. PMID: 20659094.
15. *O'Neill JP, Sexton DJ, O'Leary E, O'Kelly P, Murray S, Deady S et al.* Post-transplant malignancy in solid organ transplant recipients in Ireland, The Irish Transplant Cancer Group. *Clin Transplant.* 2019 Oct; 33 (10): e13669. doi: 10.1111/ctr.13669. Epub 2019 Sep 30. PMID: 31310037.
16. *Conlon E, Fitzgerald C, Hintze J, Elhassan EAE, Sexton DJ, O'Leary E et al.* High frequency and mortality of head and neck malignancy in organ transplant recipients in Ireland – A national cohort study. *Am J Otolaryngol*. 2023 Jul-Aug; 44 (4): 103827. doi: 10.1016/j.amjoto.2023.103827. Epub 2023 Mar 9. PMID: 36933332.
17. *Zavos G, Moris D, Kostakis ID, Vernadakis S, Bokos J, Zavvos V et al. De novo* Visceral Malignancies in Renal Transplant Recipients: A Single Center Experience of 2054 Recipients for More Than 30 Years. *Exp Clin Transplant*. 2015 Aug; 13 (4): 313–318. PMID: 26295181.
18. *Bašić-Jukić N, Borlinić T, Tešanović D, Mokos I, Krešimir Lukić I, Bukvić Mokos Z.* Risk factors for non-melanoma skin cancer development in renal transplant recipients: a 40 year retrospective study in Croatia. *Croat Med J*. 2022 Apr 30; 63 (2): 148–155. doi: 10.3325/cmj.2022.63.148. PMID: 35505648; PMCID: PMC9086819.
19. *Cheung CY, Lam MF, Chu KH, Chow KM, Tsang KY, Yuen SK et al.* Malignancies after kidney transplantation: Hong Kong renal registry. *Am J Transplant*. 2012 Nov; 12 (11): 3039–3046. doi: 10.1111/j.1600-6143.2012.04209.x. Epub 2012 Aug 6. PMID: 22883513.
20. *Wu MJ, Lian JD, Yang CR, Cheng CH, Chen CH, Lee WC et al.* High cumulative incidence of urinary tract transitional cell carcinoma after kidney transplantation in Taiwan. *Am J Kidney Dis*. 2004 Jun; 43 (6): 1091–1097. doi: 10.1053/j.ajkd.2004.03.016. PMID: 15168390.
21. *Feng WW, Wang TN, Chen HC, Ho JC, Ko YC*. Malignancies after renal transplantation in southern Taiwan: experience in one centre. *BJU Int.* 2007 Apr; 99 (4): 825–829. doi: 10.1111/j.1464-410X.2006.06645.x. Epub 2006 Nov 28. PMID: 17155978.
22. *Yeh CC, Khan A, Muo CH, Yang HR, Li PC, Chang CH et al. De novo* Malignancy After Heart, Kidney, and Liver Transplant: A Nationwide Study in Taiwan. *Exp Clin Transplant*. 2020 Apr; 18 (2): 224–233. doi: 10.6002/ect.2019.0210. Epub 2020 Mar 4. PMID: 32133940.
23. *Li XB, Xing NZ, Wang Y, Hu XP, Yin H, Zhang XD*. Transitional cell carcinoma in renal transplant recipients: a single center experience. *Int J Urol.* 2008 Jan; 15 (1): 53–57. doi: 10.1111/j.1442-2042.2007.01932.x. PMID: 18184173.
24. *Wu B, Wang K, Mo CB, Shen ZY. De novo* malignancies in renal transplant recipients: experience at a single center in China. *Int J Clin Exp Med.* 2015 Feb 15; 8 (2): 2911–2916. PMID: 25932254; PMCID: PMC4402901.
25. *Sun Q, Li X, Cheng D, He Q, Chen J, Ji S, Liu Z.* Special malignancy pattern in Chinese renal transplantation recipients: a single center experience and literature review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12 (12): 3347–3351. PMID: 22471478.
26. *Zhang J, Ma L, Xie Z, Guo Y, Sun W, Zhang L et al.* Epidemiology of post-transplant malignancy in Chinese renal transplant recipients: a single-center experience and literature review. *Med Oncol.* 2014 Jul; 31 (7): 32. doi: 10.1007/s12032-014-0032-6. Epub 2014 Jun 8. PMID: 24908063.
27. *Ho CJ, Huang YH, Hsieh TY, Yang MH, Wang SC, Chen WJ et al.* Native Kidney Hydronephrosis Is Associated with Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma in Post-Kidney Transplantation Patients. *J Clin Med.* 2021 Sep 28; 10 (19): 4474. doi: 10.3390/jcm10194474. PMID: 34640492; PMCID: PMC8509333.
28. *Ho CJ, Huang YH, Hsieh TY, Yang MH, Wang SC, Chen WJ et al.* New Hydronephrosis in the Native Kidney Is Associated with the Development of *De novo* Urinary Bladder Urothelial Carcinoma in Patients with Post-Kidney Transplantation. *Healthcare (Basel).* 2023 Apr 23; 11 (9): 1209. doi: 10.3390/healthcare11091209. PMID: 37174750; PMCID: PMC10178461.
29. *Laowalert S, Naitook N, Boonnim K, Prungrit U, Aekkachaipitak N, Lamjantuek P et al.* Report on post-transplantation cancer in southeast Asia from the Thai kidney transplantation cohort. *Sci Rep.* 2024 Aug 30; 14 (1): 20154. doi: 10.1038/s41598-024-71041-x. PMID: 39215076; PMCID: PMC11364626.

30. *Srisuwarn P, Sutharattanapong N, Disthabanchong S, Kantachuvesiri S, Kitiyakara C, Phakdeekitcharoen B et al.* Incidence of *De novo* Post-Transplant Malignancies in Thai Adult Kidney Transplant Recipients: A Single-Center, Population-Controlled, Retrospective Cohort Study at the Highest Volume Kidney Transplant Center in Thailand. *Transpl Int.* 2024 Feb 26; 37: 11614. doi: 10.3389/ti.2024.11614. PMID: 38468637; PMCID: PMC10926888.
31. *Ju MK, Joo DJ, Kim SJ, Huh KH, Kim MS, Jeon KO et al.* Chronologically different incidences of post-transplant malignancies in renal transplant recipients: single center experience. *Transpl Int.* 2009 Jun; 22 (6): 644–653. doi: 10.1111/j.1432-2277.2009.00846.x. Epub 2009 Feb 10. PMID: 19220824.
32. *Hwang JK, Moon IS, Kim JI.* Malignancies after kidney transplantation: a 40-year single-center experience in Korea. *Transpl Int.* 2011 Jul; 24 (7): 716–721. doi: 10.1111/j.1432-2277.2011.01270.x. Epub 2011 May 16. PMID: 21575081.
33. *Park B, Yoon J, Choi D, Kim HJ, Jung YK, Kwon OJ et al. De novo* cancer incidence after kidney and liver transplantation: Results from a nationwide population based data. *Sci Rep.* 2019 Nov 20; 9 (1): 17202. doi: 10.1038/s41598-019-53163-9. PMID: 31748582; PMCID: PMC6868238.
34. *Jeong S, Lee HS, Kong SG, Kim DJ, Lee S, Park MJ et al.* Incidence of malignancy and related mortality after kidney transplantation: a nationwide, population-based cohort study in Korea. *Sci Rep*. 2020 Dec 8; 10 (1): 21398. doi: 10.1038/s41598-020-78283-5. PMID: 33293655; PMCID: PMC7722878.
35. *Teo SH, Lee KG, Lim GH, Koo SX, Ramirez ME, Chow KY et al.* Incidence, risk factors and outcomes of malignancies after kidney transplantation in Singapore: a 12-year experience. *Singapore Med J*. 2019 May; 60 (5): 253–259. doi: 10.11622/smedj.2018122. Epub 2018 Oct 10. PMID: 30311626; PMCID: PMC6535454.
36. *Imamura R, Nakazawa S, Yamanaka K, Kakuta Y, Tsutahara K, Taniguchi A et al.* Cumulative cancer incidence and mortality after kidney transplantation in Japan: A long-term multicenter cohort study. *Cancer Med.* 2021 Apr; 10 (7): 2205–2215. doi: 10.1002/cam4.3636. Epub 2020 Dec 13. PMID: 33314709; PMCID: PMC7982608.
37. *Kanno S, Noda T, Myojin T, Nishioka Y, Kubo S, Eriguchi M et al.* Incidence and risk of cancer emergence among patients post-kidney transplantation in Japan. *Clin Exp Nephrol.* 2025 Aug 27. doi: 10.1007/s10157-025-02748-y. Epub ahead of print. PMID: 40864337.
38. *Villeneuve PJ, Schaubel DE, Fenton SS, Shepherd FA, Jiang Y, Mao Y.* Cancer incidence among Canadian kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2007 Apr; 7 (4): 941–948. doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.01736.x. Epub 2007 Feb 28. PMID: 17331115.
39. *Sapir-Pichhadze R, Laprise C, Beauchamp ME, Kaouache M, Zhang X, Della Vecchia A et al.* Immunosuppression and cancer risk in kidney transplant recipients: A retrospective cohort study. *Int J Cancer.* 2024 Jun 15; 154 (12): 2043–2053. doi: 10.1002/ijc.34875. Epub 2024 Feb 12. PMID: 38345158.
40. *Sampaio MS, Cho YW, Qazi Y, Bunnapradist S, Hutchinson IV, Shah T.* Posttransplant malignancies in solid organ adult recipients: an analysis of the U.S. National Transplant Database. *Transplantation.* 2012 Nov 27; 94 (10): 990–998. doi: 10.1097/TP.0b013e318270bc7b. PMID: 23085553.
41. *Blosser CD, Haber G, Engels EA.* Changes in cancer incidence and outcomes among kidney transplant recipients in the United States over a thirty-year period. *Kidney Int.* 2021 Jun; 99 (6): 1430–1438. doi: 10.1016/j.kint.2020.10.018. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33159960; PMCID: PMC8096865.
42. *Tao J, Shing JZ, Yu KJ, Kreimer AR, Hsieh MC, Pawlish KS et al.* Spectrum of cancer risk in Asian American and Pacific Islander solid organ transplant recipients. *J Natl Cancer Inst.* 2025 Jul 1; 117 (7): 1456–1464. doi: 10.1093/jnci/djaf069. PMID: 40112042; PMCID: PMC12229455.
43. *Sargen MR, Cahoon EK, Yu KJ, Madeleine MM, Zeng Y, Rees JR et al.* Spectrum of Nonkeratinocyte Skin Cancer Risk Among Solid Organ Transplant Recipients in the US. *JAMA Dermatol.* 2022 Apr 1; 158 (4): 414–425. doi: 10.1001/jamadermatol.2022.0036. PMID: 35262623; PMCID: PMC8908231.
44. *Sargen MR, Cahoon EK, Lynch CF, Tucker MA, Goldstein AM, Engels EA.* Sebaceous Carcinoma Incidence and Survival Among Solid Organ Transplant Recipients in the United States, 1987–2017. *JAMA Dermatol.* 2020 Dec 1; 156 (12): 1307–1314. doi: 10.1001/jamadermatol.2020.3111. PMID: 33146669; PMCID: PMC7643042.
45. *Leon-Rodriguez E, Armengol-Alonso A, Rivera-Franco MM, Alberú-Gómez J, Merchan-Alvear P.* Malignancies after renal transplantation: experience of a Mexican referral center. *Clin Transl Oncol.* 2020 Oct; 22 (10): 1796–1801. doi: 10.1007/s12094-020-02318-6. Epub 2020 Feb 19. PMID: 32076993.
46. *Malagón-Liceaga A, Bermúdez-Rodríguez SP, Romero-Aguila JA, Carolina LF, Palafox-Romo R, Díaz-Sánchez VM et al.* Skin cancer incidence in Mexican renal transplant recipients: a cohort over 56 years. *Int J Dermatol*. 2024 Nov; 63 (11): e315–e321. doi: 10.1111/ijd.17332. Epub 2024 Jun 21. PMID: 39425592.
47. *Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MR, van Leeuwen MT, Stewart JH, Law M et al.* Cancer incidence before and after kidney transplantation. *JAMA.* 2006 Dec 20; 296 (23): 2823–2831. doi: 10.1001/jama.296.23.2823. PMID: 17179459.

Статья поступила в редакцию 26.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 26.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-39-45

СЛИВ-РЕЗЕКЦИЯ ЖЕЛУДКА ПРИ МОРБИДНОМ ОЖИРЕНИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

С.Е. Григорьев[1, 2], М.О. Мовсисян[1, 2], А.В. Новожилов[1, 2], А.М. Манвелян[1]

[1] ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, Российская Федерация
[2] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск, Российская Федерация

Цель: представить наблюдение пациентки, у которой после трансплантации печени проведена лапароскопическая продольная резекция желудка по поводу морбидного ожирения. **Материал и методы.** Пациентке 1968 г. р. с первичным билиарным циррозом в 2019 г. выполнена ортотопическая трансплантация печени. Через 3 года – пластика передней брюшной стенки по поводу послеоперационной грыжи. После трансплантации печени отмечалось постепенное увеличение массы тела, ухудшение качества жизни. В условиях выраженного спаечного процесса в брюшной полости выполнена лапароскопическая продольная резекция желудка. Послеоперационный период без осложнений. **Результаты.** Снижение веса, улучшение качества жизни, оптимальная функция трансплантата. **Заключение.** Лапароскопическая слив-резекция желудка – эффективный метод лечения ожирения и его осложнений после трансплантации печени.

Ключевые слова: первичный билиарный цирроз, трансплантация печени, морбидное ожирение, слив-резекция, спаечная болезнь брюшины, лапароскопическая продольная резекция желудка.

SLEEVE GASTRECTOMY IN A PATIENT WITH MORBID OBESITY FOLLOWING LIVER TRANSPLANTATION

S.E. Grigoriev[1, 2], M.O. Movsisyan[1, 2], A.V. Novozhilov[1, 2], A.M. Manvelyan[1]

[1] Irkutsk Regional Clinical Hospital, Irkutsk, Russian Federation
[2] Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

Objective: to present a clinical case of laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) performed for morbid obesity following liver transplantation (LT). **Materials and methods.** A female patient (born 1968) with primary biliary cirrhosis underwent orthotopic LT in 2019. Three years later, she required anterior abdominal wall repair for a postoperative hernia. Subsequently, progressive weight gain and deterioration in quality of life were observed. Despite significant intra-abdominal adhesions, LSG was performed. The postoperative period was uneventful. **Results.** The patient demonstrated significant weight loss, improved quality of life, and preserved graft function. **Conclusion.** LSG is an effective treatment for morbid obesity and its associated complications following LT.

Keywords: primary biliary cirrhosis, liver transplantation, morbid obesity, sleeve gastrectomy, peritoneal adhesions, laparoscopic sleeve gastrectomy.

ВВЕДЕНИЕ

Излишний вес и ожирение остаются одной из наиболее актуальных проблем современного общества [1, 2]. По прогнозам, неалкогольный стеатогепатит может занять лидирующие позиции среди показаний к трансплантации печени (ТП) [3, 4]. У пациентов с ожирением повышается риск первичного нефункционирования трансплантата, а также сосудистых и билиарных осложнений после ТП, ухудшается выживаемость графта в течение года после пересадки [5].

Ожирение может приводить к возникновению неалкогольной жировой болезни трансплантированной печени и вызывать ее дисфункцию [3]. E.M. Dobrindt et al. на основании 1494 биопсий у 271 пациента в период от 5 до 10 лет после ТП установили связь между ожирением, сахарным диабетом и развитием стеатоза *de novo* в пересаженной печени [6].

Для корреспонденции: Григорьев Сергей Евгеньевич. Адрес: 664049, Иркутск, мкр. Юбилейный, д. 100. Тел. (902) 176-71-06. E-mail: grigorievse@gmail.com

Corresponding author: Sergey Grigoriev. Address: 100, Mikrorayon Yubileynyy, Irkutsk, 664049, Russian Federation. Phone: (902) 176-71-06. E-mail: grigorievse@gmail.com

Ю.О. Малиновская и соавт. в результате анализа данных трекера активности 87 пациентов после ТП установили, что 60,5% из них ведут малоподвижный образ жизни и находятся в группе риска развития ожирения и других осложнений [7].

Y. Lee et al. в метаанализе показали, что бариатрическая хирургия может эффективно и достаточно безопасно применяться до, во время и после ТП [8]. Ряд зарубежных авторов сообщают об успешном применении лапароскопической продольной резекции желудка для лечения ожирения после ТП [9–12]. В отечественной литературе мы не нашли информации о проведении бариатрических операций пациентам с пересаженной печенью. В Иркутской областной клинической больнице (ИОКБ) лапароскопическая продольная резекция желудка впервые была проведена 21.03.2022 г. пациенту, перенесшему 04.04.2020 г. симультанную трансплантацию печени и почки по поводу цирроза печени в исходе вирусного гепатита С и хронической болезни почек С4А, с положительным эффектом.

Пациенты, перенесшие ТП, безусловно, относятся к категории высокого риска при проведении повторных хирургических вмешательств, прежде всего это связано с постоянным медикаментозным подавлением иммунитета. Кроме того, пересадка печени является травматичной для брюшной полости операцией, в том числе потому, что выполняется через широкую комбинированную лапаротомию. Это обусловливает известные трудности при проведении повторных, особенно лапароскопических, вмешательств на органах брюшной полости на фоне выраженного спаечного процесса [11]. Недостаточно изучено влияние бариатрических операций на прием и дозирование иммуносупрессорных препаратов и поддержание их концентрации.

Долгосрочные последствия применения агонистов глюкоподобного пептида-1 у пациентов после трансплантации печени недостаточно изучены [13].

Под нашим наблюдением находятся 92 пациента после ТП, из них 58 (53,3%) имеют избыточную массу тела. Индекс массы тела (ИМТ) от 25 до 29,9 кг/м^2 – 34 (31,2%), ожирение первой степени – 21 (19,3%), второй – 2 (1,8%), третьей – 1 (0,9%).

В данном сообщении обсуждается успешное хирургическое лечение ожирения у пациентки после трансплантации печени.

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациентка 1968 г.р. в апреле 2017 г. отметила иктеричность склер и кожи, появление кожного зуда. В январе 2018 г. госпитализирована в гастроэнтерологическое отделение ИОКБ. Общий анализ крови (ОАК): лейкоциты – 6,06 × 10^9/л, эритроциты – 3,6 × 10^{12}/л, гемоглобин – 97 г/л, тромбоциты – 360 × 10^9/л; биохимия крови (БХ): общий белок – 73 г/л, глюкоза – 3,7 ммоль/л, АлАТ – 98 МЕ/л, АсАТ – 134 МЕ/л; щелочная фосфатаза – 844 МЕ/л, холестерин – 10,5 ммоль/л, общий билирубин 122 мкмоль/л, прямой билирубин – 96,2 мкмоль/л, коагулограмма: протромбиновое время – 13,6 с, протромбиновый индекс – 75,4%, МНО – 1,15. По данным МСКТ брюшной полости, печень с ровными контурами, увеличена в размерах (КВР 185 мм), однородной структуры (до контрастирования 48 ед.Н., после 79 ед.Н.), равномерно накапливает контраст. Внутри- и внепеченочные желчные протоки не расширены. Выполнена биопсия печени: хронический гепатит неуточненный, слабый фиброз, редкие холестазы. Данных за стеатогепатит, первичный склерозирующий холангит, аутоиммунный гепатит не было. О наличии первичного билиарного цирроза высказаться нельзя – единичный портальный тракт в препарате. После проведенной консервативной терапии выписана с улучшением. Диагноз: хронический гепатит, возможно, аутоиммунного генеза, активная фаза умеренной степени активности с выраженным синдромом холестаза. В апреле 2019 г. отметила резкое ухудшение состояния: выраженную общую слабость, отсутствие аппетита, усиление желтушности кожного покрова и склер, постоянный кожный зуд. Госпитализирована в отделение гастроэнтерологии, выявлены антитела к митохондриям (АМА), IgG+A+M: 1 : 5120 титр (<1 : 40).

В этом же году по поводу тератомы правого яичника выполнена аднексэктомия из нижнесрединного доступа.

Включена в лист ожидания на трансплантацию печени 19.04.2019 г. Диагноз: первичный билиарный цирроз печени 4-й стадии, активная фаза умеренной степени с выраженным синдромом холестаза (ГГТ 330 мЕ/л, щелочная фосфатаза 844 мЕ/л). По шкале MELD 16 баллов.

Выполнена ортотопическая ТП 06.10.2019 г. На момент операции вес – 70 кг, рост – 157 см, ИМТ – 28,4 кг/м^2. Выписана в удовлетворительном состоянии 12.11.2019. Иммуносупрессивная терапия: такролимус пролонгированного действия, микофеноловая кислота.

В течение последующих лет начала увеличиваться масса тела (рис. 1).

13.09.2022 г. по поводу послеоперационной срединной вентральной грыжи (M3W3R0 по классификации Европейского общества герниологии) выполнена герниолапаротомия, пластика передней брюшной стенки эндопротезом-сеткой sublay. Вес – 107 кг, ИМТ – 43,4 кг/м^2.

В течение 2023–2024 гг. отмечала ухудшение состояния: снижение толерантности к физической нагрузке, одышку, задержку дыхания во сне, от чего просыпалась до 3 раз за ночь, выраженное снижение качества жизни. Вес – 123 кг, ИМТ – 49,9 кг/м^2

(рис. 2). Консервативные попытки снижения веса без эффекта.

По поводу гипертонической болезни 2-й стадии принимала амлодипин 5 мг, валсартан 80 мг. Несмотря на лечение, постоянное повышение артериального давления до 170 мм рт. ст. Кардиологом увеличена доза амлодипина до 10 мг, валсартана до 160 мг, добавлен моксонидин 0,4 мг, что позволило купировать артериальную гипертензию. Общий анализ крови (ОАК): лейкоциты – 5,64 × 10^9/л, эритроциты – 4,93 × 10^{12}/л, гемоглобин – 143 г/л, тромбоциты – 227 × 10^9/л; биохимия крови (БХ): общий белок – 78 г/л, альбумин – 41 г/л, глюкоза – 5,6 ммоль/л, АлАТ – 33 МЕ/л, АсАТ – 27 МЕ/л; коагулограмма: АПТВ – 25,6 с, ПТВ – 12,1 с, фибриноген – 2,68 г/л, МНО – 1,16. Принимала 4 мг такролимуса, микофеноловую кислоту 360 мг 2 раза в день. Концентрация такролимуса в сыворотке крови – 6,8 нг/мл.

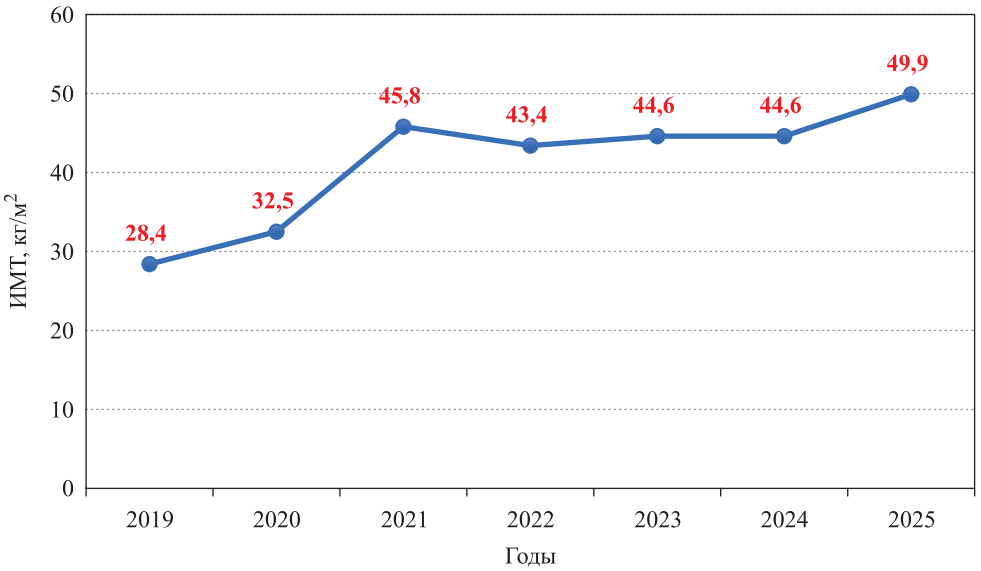


Рис. 1. Динамика изменения индекса массы тела после трансплантации печени

Fig. 1. Changes in body mass index following liver transplantation



Рис. 2. Вид пациентки через 1 сутки после слив-резекции (вес 123 кг)

Fig. 2. Patient's appearance 1 day after sleeve gastrectomy (weight 123 kg)

27.03.2025 г. выполнена лапароскопическая продольная резекция желудка. Оптический троакар 12 мм установлен в левом подреберье – наиболее интактном месте после перенесенных операций (аднексэктомии, ТП, пластики передней брюшной стенки эндопротезом-сеткой). В брюшной полости спаечный процесс, локализованный преимущественно по средней линии и правой половине живота, менее выражен слева (рис. 3).

Рассечение спаек гармоническим скальпелем с последовательной установкой троакаров и полипозиционным перемещением лапароскопа и инструментов. После адгезиолизиса отметили плотную фиксацию левой доли печени к диафрагме и передней брюшной стенке и воздержались от установки ретрактора. Обращает внимание отсутствие выраженных макроскопических признаков жирового гепатоза трансплантата (рис. 4).

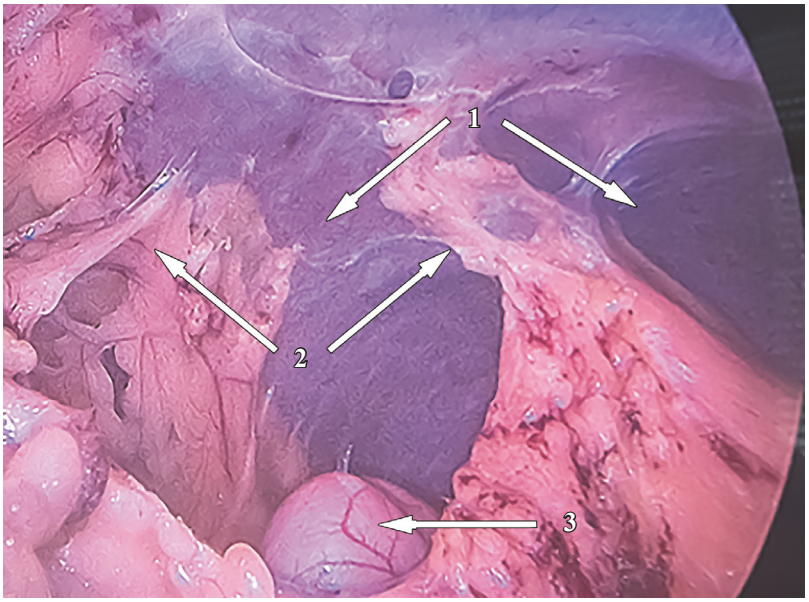


Рис. 3. Интраоперационное фото. Вид верхнего этажа брюшной полости. Спаечный процесс (1 – левая доля печени; 2 – спайки; 3 – желудок)

Fig. 3. Intraoperative view of the upper abdominal cavity showing adhesions. 1 – left lobe of the liver; 2 – adhesions; 3 – stomach

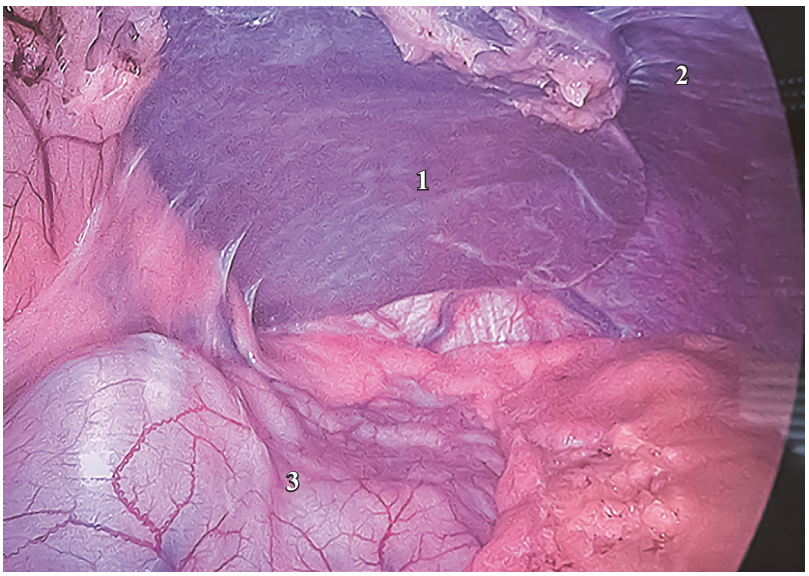


Рис. 4. Интраоперационное фото. Вид брюшной полости после частичного рассечения спаек. Левая доля печени (1) фиксирована сращениями к диафрагме (2), 3 – желудок

Fig. 4. Intraoperative view of the abdominal cavity after partial adhesiolysis. The left lobe of the liver (1) is adherent to the diaphragm (2) and the stomach (3)

Технические трудности появились при мобилизации привратника и его отделении от правой доли печени, гепатодуоденальной связки и большого сальника. Проблем с освобождением большой кривизны, дна желудка и левой ножки диафрагмы не было. Резекционный этап без особенностей, выполнен на зонде 38 Fr, с использованием 6 степлерных кассет. Всего для выполнения вмешательства потребовалось 6 троакарных доступов (рис. 5). Время операции – 125 минут. Макропрепарат представлен на рис. 6. Обычное течение послеоперационного периода, дренаж удален на следующий день, выписана на 5-е сутки после операции.



Рис. 5. Вид брюшной стенки после операции. Дренаж в брюшной полости

Fig. 5. Postoperative view of the abdominal wall with intra-abdominal drainage in place

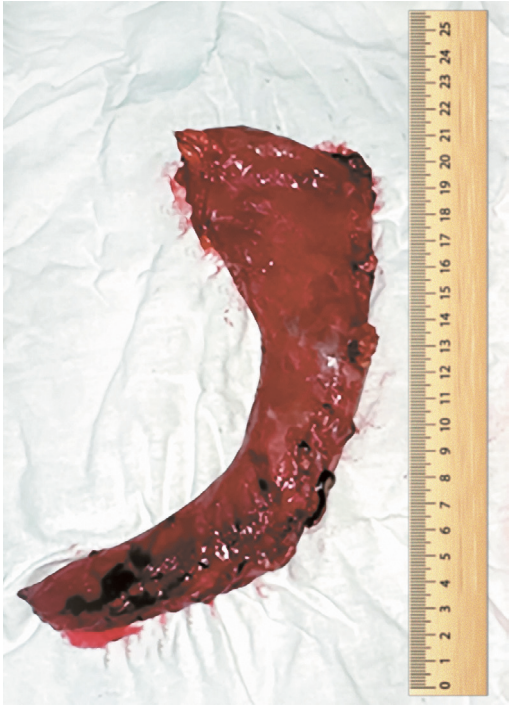


Рис. 6. Макропрепарат. Резецированный желудок

Fig. 6. Gross specimen of the resected stomach

Период наблюдения – 7 месяцев. Снижение веса на 38 кг, текущий – 85 кг, ИМТ – 34,5 кг/м^2. Прием такролимуса и микофеноловой кислоты в прежней дозировке. Концентрация такролимуса в сыворотке крови 4–5 нг/мл. Признаков дисфункции трансплантата нет. ОАК: лейкоциты – 7,47 × 10^9/л, эритроциты – 4,37 × 10^{12}/л, гемоглобин – 131 г/л, тромбоциты – 207 × 10^9/л; БХ: общий белок – 75 г/л, альбумин – 43 г/л, глюкоза – 4,8 ммоль/л, АлАТ – 22 МЕ/л, АсАТ – 24 МЕ/л; коагулограмма: АПТВ – 27,7 с, ПТВ – 11,9 с, фибриноген – 2,61 г/л, МНО – 1,14. Артериальное давление в пределах нормы, контролируется приемом амлодипина 5 мг, валсартана 80 мг. Отмечает значительное улучшение качества жизни, прекращение ночного апноэ. Динамика снижения ИМТ представлена на рис. 7. Фото пациентки через 6 месяцев после операции – на рис. 8.

ОБСУЖДЕНИЕ

Среди пациентов, перенесших трансплантацию печени, актуальна проблема лишнего веса и гиподинамии, которые приобретают особое значение в связи с развитием стеатоза трансплантата *de novo* и возможной его дисфункцией [3, 6, 7].

Бариатрические операции в сравнении с фармакологическими способами коррекции веса сохраняют заметные преимущества по эффективности у пациентов с морбидным ожирением [14]. Взаимодействие агонистов ГПП-1 и иммуносупрессорных препаратов, а также отдаленные результаты их применения у трансплантированных пациентов требуют дальнейшего изучения [13].

В нашем наблюдении получен отчетливый положительный результат операции, проявляющийся в стабильном и существенном снижении веса, улучшении качества жизни, купировании ночного апноэ, контролируемом течении артериальной гипертензии и снижении доз гипотензивных препаратов.

Слив-резекция представляется более приемлемым вмешательством у пациентов, принимающих иммуносупрессоры, по сравнению с шунтирующими операциями, т. к. сопровождается меньшей частотой осложнений и лишена мальабсортивного компонента [11, 15]. Но этот вопрос требует отдельного изучения [9]. В нашем наблюдении продольная резекция не повлияла на режим дозирования такролимуса и

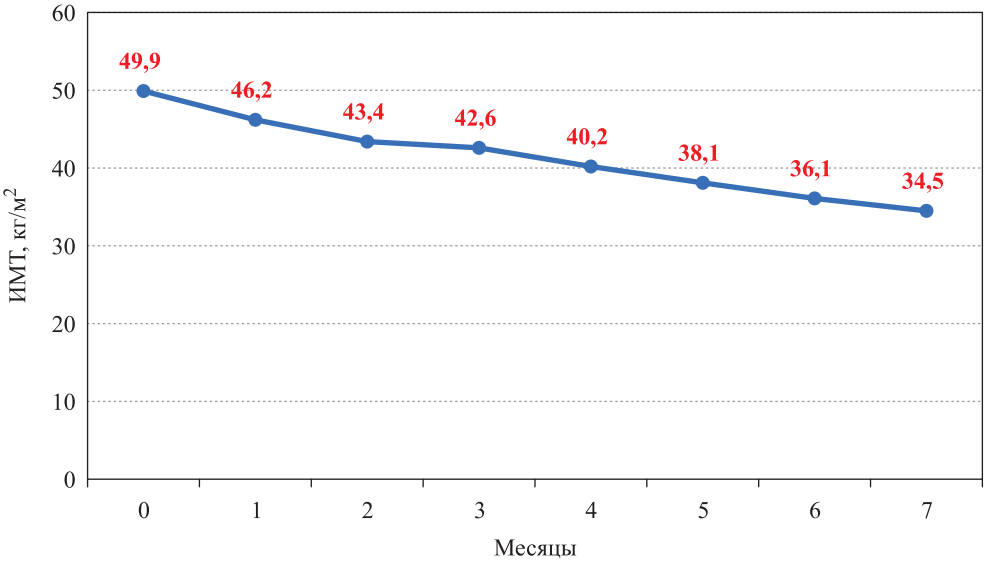


Рис. 7. Динамика снижения индекса массы тела после слив-резекции

Fig. 7. Changes in body mass index following sleeve gastrectomy



Рис. 8. Пациентка через 7 месяцев после слив-резекции. Вес – 85 кг

Fig. 8. Patient 7 months after sleeve gastrectomy (weight 85 kg)

микофеноловой кислоты, а также на концентрацию такролимуса в сыворотке крови. Это подтверждается исследованием L. Tsamalaidze et al. [12].

Даже после ряда перенесенных травматичных вмешательств в анамнезе (аднексэктомия из нижнесрединной лапаротомии, трансплантация печени, пластика передней брюшной стенки полипропиленовой сеткой по поводу большой послеоперационной грыжи) выполнение лапароскопического варианта продольной резекции желудка вполне осуществимо и безопасно, при условии последовательного введения троакаров после этапного выполнения адгезиолизиса и полипозиционной перестановки лапароскопа и инструментов. Такой вариант операции считается технически сложным из-за выраженного спаечного процесса [11].

Учитывая специфику пациентов, перенесших пересадку печени, бариатрические операции необходимо проводить в специализированных клиниках, занимающихся трансплантацией органов.

ВЫВОДЫ

1. Продольная резекция желудка (слив-резекция) после трансплантации печени является эффективным и безопасным методом лечения ожирения.
2. Смена режима дозирования такролимуса и микофеноловой кислоты после слив-резекции желудка не требуется.
3. Обширные и множественные операции на брюшной полости в анамнезе не являются противопоказанием к лапароскопическому выполнению продольной резекции желудка.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *García Ruiz de Gordejuela A, Ibarzabal A, Osorio J*. Bariatric surgery and solid-organ transplantation. *Transplant Proc*. 2022; 54 (1): 87–90. https://doi.org/10.1016/j.transproceed. 2021.11.008.
2. *Diwan TS, Lee TC, Nagai S, Benedetti E, Posselt A, Bumgardner G et al.* Obesity, transplantation, and bariatric surgery: An evolving solution for a growing epidemic. *Am J Transplant*. 2020; 20 (8): 2143–2155. https://doi.org/10.1111/ajt.15784.
3. *Diwan TS, Rice TC, Heimbach JK, Schauer DP*. Liver transplantation and bariatric surgery: timing and outcomes. *Liver Transpl*. 2018; 24 (9): 1280–1287. https://doi.org/10.1002/lt.25303.
4. *Suraweera D, Dutson E, Saab S*. Liver transplantation and bariatric surgery: best approach. *Clin Liver Dis*. 2017; 21 (02): 215–230. https://doi.org/10.1016/j.cld.2016.12.001.
5. *Tejedor-Tejada J, Garcia-Pajares F, Safadi R, Mauriz-Barreiro V, Molina E et al*. The impact of obesity on postoperative complications and short-term survival after liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2023; 35 (7): 782–789. https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000002574.
6. *Dobrindt EM, Allex L, Saipbaev A, Öllinger R, Schöning W, Pratschke J et al*. Association between obesity after liver transplantation and steatosis, inflammation, and fibrosis of the graft. *Clin Transplant*. 2020; 34 (12): e14093. https://doi.org/10.1111/ctr.14093.
7. *Малиновская ЮО, Кокина КЮ, Мойсюк ЯГ, Сумцова ОВ*. Влияние поздней дисфункции трансплантата печени на физическую активность реципиентов. *Трансплантология*. 2021; 13 (4): 356–366. *Malinovskaya YuO, Kokina KYu, Moysyuk YaG, Sumtsova OV*. The impact of late liver allograft dysfunction on physical activity of liver transplant recipients. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2021; 13 (4): 356–366. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2021-13-4-356-366.
8. *Lee Y, Tian C, Lovrics O, Soon MS, Doumouras AG, Anvari M et al*. Bariatric surgery before, during, and after liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Surg Obes Relat Dis*. 2020; 16 (9): 1336–1347. https://doi.org/10.1016/j.soard.2020.05.012.
9. *Ahmed Z, Khan MA, Vazquez-Montesino LM, Ahmed A*. Bariatric surgery, obesity and liver transplantation. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2022; 7: 25. https://doi.org/10.21037/tgh-2020-14.
10. *De Barros F, Cardoso Faleiro Uba PH*. Liver transplantation and bariatric surgery: a new surgical reality: a systematic review of the best time for bariatric surgery. *Updates Surg*. 2021; 73 (5): 1615–1622. https://doi.org/10.1007/s13304-021-01106-3.
11. *Safavi D, Creavin B, Gallagher TK, Kelly ME*. The role of bariatric surgery in liver transplantation: timing and type. *Langenbecks Arch Surg*. 2022; 407 (8): 3249–3258. https://doi.org/10.1007/s00423-022-02606-5.
12. *Tsamalaidze L, Stauffer JA, Arasi LC, Villacreses DE, Franco JSS, Bowers S et al*. Laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity in patients after orthotopic liver transplant: A matched case-control study. *Obes Surg*. 2018; 28 (2): 444–450. https://doi.org/10.1007/s11695-017-2847-7.
13. *Shenoy A, Bloom PP*. Weight to go! – Glucagon-like peptide 1 receptor agonists in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2024; 30 (2): 124–126. https://doi.org/10.1097/LVT. 0000000000000291.
14. *Melson E, Miras AD, Papamargaritis D*. Future therapies for obesity. *Clin Med (Lond)*. 2023; 23 (4): 337–346. https://doi.org/10.7861/clinmed.2023-0144.
15. *Sugawara Y, Hibi T*. Recent trends and new developments in liver transplantation. *Biosci Trends*. 2024; 18 (3): 206–211. https://doi.org/10.5582/bst.2024.01176.

Статья поступила в редакцию 31.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 31.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-46-51

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ ОТ РОДСТВЕННОГО ДОНОРА ПАЦИЕНТУ С СИНДРОМОМ БАРДЕ–БИДЛЯ

Я.Г. Мойсюк[1], В.М. Магилевец[2, 3], Е.Г. Куликова[2], М.В. Магилевец[3], С.И. Голяна[4], В.Е. Басков[5], В.М. Кенис[5]

[1] ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[3] ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[4] СПб ГБУЗ «Детский городской многопрофильный клинический специализированный центр высоких медицинских технологий» (Детская городская больница № 1), Санкт-Петербург, Российская Федерация
[5] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г.И. Турнера» Минздрава России, Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация

Актуальность. Синдром Барде–Бидля – наследственная диэнцефально-ретинальная патология, проявляющаяся ожирением, умственной отсталостью, ретинопатией, брахидактилией, полидактилией, гипогенитализмом и дисфункцией почек. Примерно у 25% пациентов диагностируется терминальная стадия хронической почечной недостаточности, при которой требуется заместительная почечная терапия или трансплантация, при этом в большинстве случаев – в детском возрасте. **Цель:** демонстрация результатов лечения тяжелой хронической почечной недостаточности у больной 16 лет с редким генетическим заболеванием – синдромом Барде–Бидля, ранее (в возрасте 6 лет) перенесшей трансплантацию почки от родственного донора. **Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ анамнестических сведений, течения заболевания, лабораторных и инструментальных данных, а также проводимой терапии пациентки 16 лет с синдромом Барде–Бидля. **Результаты.** 25.11.2015 г. выполнена AB0-совместимая родственная аллотрансплантация почки справа (от отца). Назначена следующая поддерживающая терапия: такролимус, микофеноловая кислота, метилпреднизолон. Функция трансплантата немедленная. На момент консультации 13.11.2024 г. получает такролимус (програф) по 1,5 мг × 2 раза в день, микофеноловую кислоту по 180 мг × 2 раза в день, метилпреднизолон 4 мг/сут внутрь, кардиомагнил, омепразол 20 мг внутрь. Креатинин 65,9 мкмоль/л (СКФ CKD-EPI 119,72 мл/мин/1,73 м^2). **Заключение.** Несмотря на наличие тяжелых врожденных патологий у пациентки, в данном клиническом наблюдении представлена успешная трансплантация почки с минимальным количеством осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде.

Ключевые слова: синдром Барде–Бидля, аномалии развития, ХПН, трансплантация почки, родственная трансплантация.

Для корреспонденции: Магилевец Вячеслав Михайлович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (916) 527-24-78. E-mail: mag190@inbox.ru

Corresponding author: Viacheslav Magilevets. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (916) 527-24-78. E-mail: mag190@inbox.ru

LIVING-RELATED KIDNEY TRANSPLANTATION IN A PATIENT WITH BARDET–BIEDL SYNDROME

Ya.G. Moisyuk[1], V.M. Magilevets[2, 3], E.G. Kulikova[2], M.V. Magilevets[3], S.I. Golyana[4], V.E. Baskov[5], V.M. Kenis[5]

[1] Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation
[2] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[3] Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation
[4] Children's City Hospital No. 1, St. Petersburgr, Russian Federation
[5] Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery, St. Petersburgr, Russian Federation

Background. Bardet–Biedl syndrome (BBS) is a hereditary diencephalic-retinal disorder characterized by a combination of clinical features, including obesity, mental retardation, retinal degeneration, brachydactyly, polydactyly, hypogenitalism, and renal dysfunction. Up to 25% of patients develop end-stage chronic renal failure requiring renal replacement therapy or kidney transplant (KT), often during childhood. **Objective:** to present the treatment outcomes of severe chronic renal failure in a 16-year-old female patient with the rare genetic condition BBS, who previously underwent KT from a related donor at the age of 6. **Materials and methods.** A retrospective analysis was conducted of the patient's medical records, including the clinical course of the disease, laboratory and instrumental findings, and details of the treatment provided to the 16-year-old patient diagnosed with BBS. **Results.** On November 25, 2015, an AB0-compatible related (the patient's father) KT was performed on the right side. Maintenance immunosuppressive therapy included tacrolimus, mycophenolic acid, methylprednisolone. Immediate graft function was observed after the surgery. At the follow-up consultation on November 13, 2024, the patient was receiving tacrolimus (Prograf) 1.5 mg twice daily, mycophenolic acid 180 mg twice daily, methylprednisolone 4 mg per day orally, as well as Cardiomagnyl and Omeprazole 20 mg orally. Laboratory findings showed a serum creatinine level of 65.9 μmol/L, with an estimated glomerular filtration rate calculated using the CKD-EPI equation of 119.72 mL/min/1.73 m^2. **Conclusion.** Despite the presence of severe congenital pathologies associated with BBS, this clinical case presents a successful KT with minimal complications in both the early and long-term postoperative periods.

Keywords: Bardet–Biedl syndrome, developmental abnormalities, chronic renal failure, kidney transplantation, related transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром Барде–Бидля – наследственная диэнцефально-ретинальная патология, проявляющаяся ожирением, умственной отсталостью, ретинопатией, брахидактилией, полидактилией, гипогенитализмом, аномалиями зубов, фиброзом печени, дисфункцией почек, неврологическими нарушениями и врожденными пороками сердца [1]. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

Распространенность синдрома точно не установлена. В единичных сообщениях синдром Барде–Бидля встречается достаточно редко, популяционная частота среди новорожденных 1 : 120 000–1 : 160 000 [3].

Синдром Барде–Бидля характеризуется выраженным клиническим полиморфизмом [3]:

– поражение глаз – дистрофия сетчатки (93%), миопия, астигматизм, катаракта, косоглазие;
– изменения конечностей – полидактилия (63–81%), брахидактилия (46–100%), синдактилия (8–95%);
– эндокринные нарушения – ожирение (72–92%), гипогонадизм мужской (59–98%), сахарный диабет (6–48%), гиперхолестеринемия, низкий рост, несахарный диабет;
– нарушения интеллекта (53%), задержка речевого развития (59–91%), дефекты речи (54–81%);
– дисфункции почек – поликистоз, гидронефроз, аномалии почки (68%);
– неврологические нарушения – атаксия / нарушения координации (40–86%), аносмия/гипосмия (60%);
– аномалии зубов (51%);
– фиброз печени;
– врожденные пороки сердца (7%).

Диагностика данного наследственного синдрома возможна двумя способами – по клиническим признакам [4] или с помощью молекулярно-генетического исследования. В первом случае для постановки диагноза необходимо иметь 3 основных и 2 дополнительных признака или 4 основных признака. К основным критериям отнесены изменения конечностей (поли-, брахи-, синдактилия), дистрофия сетчатки, ожирение, снижение интеллекта, гипогонадизм мужской, дисфункция почек; к дополнительным – фиброз

печени, эндокринные нарушения (сахарный диабет), гиперхолестеринемия, низкий рост, задержка речевого развития и дефекты речи [4]. При лабораторном же исследовании достаточно обнаружения 1 из 22 возможных мутаций [4].

Специфического лечения нет. Ожирение корригируют назначением диеты, полидактилию и многоуровневую деформацию нижних конечностей устраняют оперативным путем. Разработаны методы предупреждения прогрессирования снижения зрения вследствие дегенерации сетчатки [5].

Основной причиной летальности пациентов с синдромом Барде–Бидля является прогрессирующая патология почек [2, 7]. Так, по данным E. Forsythe et al., у 31% детей и 42% взрослых диагностируется хроническая болезнь почек (ХБП) 2–5-й стадии, при которой требуется заместительная почечная терапия, при этом в большинстве случаев – в детском возрасте [6]. Радикальным методом лечения является трансплантация почки.

Цель: демонстрация результатов лечения тяжелой хронической почечной недостаточности у больной 16 лет с синдромом Барде–Бидля, в возрасте 6 лет перенесшей трансплантацию почки от родственного донора.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ анамнестических сведений, течения заболевания, лабораторных и инструментальных данных, а также проводимой терапии пациентки 16 лет с синдромом Барде–Бидля.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из анамнеза: ребенок от 2-й беременности, протекавшей на фоне ОРЗ (на 30-й неделе гестации), без отеков, от первых срочных оперативных родов путем кесарева сечения (крупный плод, ягодичное предлежание), масса тела при рождении 4050 г, рост 54 см, оценка по шкале Апгар 6/7 баллов. При рождении состояние средней степени тяжести за счет неврологической симптоматики (гипотония, болезненный плач), отечного синдрома. В анализах крови от 24.08.2009 г. (7-е сутки жизни) – мочевина 5,4 ммоль/л, креатинин 109 мкмоль/л. Переведена на 3-и сутки жизни в ОРИТ с диагнозом «внутриутробная инфекция с поражением почек». В дальнейшем наблюдалась нефрологом, в анализах мочи протеинурия, лейкоцитурия.

Также у девочки определялись сопутствующие аномалии развития опорно-двигательного аппарата. На левой кисти наблюдалось удвоение 1-го пальца – полидактилия. Рентгенологическое обследование показало наличие у первого пальца одной нормально развитой 1-й пястной кости, двух основных и двух ногтевых фаланг (рис. 1).

В возрасте 1 года произведена частичная резекция дополнительных фаланг 1-го пальца и корригирующая остеотомия основной фаланги сохраняемого сегмента 1-го пальца (рис. 2, 3).

В октябре 2012 г. госпитализирована в клинику Санкт-Петербургской педиатрической медицинской академии с диагнозом «поликистоз почек». По данным компьютерной томографии, левая почка 57×27×36 мм, правая – 59×26×37 мм, во всех отделах паренхимы немногочисленные кисты от 2 до 12 мм. В биохимическом анализе крови содержание мочевины 18 ммоль/л, креатинина – 172 мкмоль/л. В динамике нарастание показателей азотемии. С декабря



Рис. 1. Рентгенограмма левой кисти – подтверждается полидактилия 1-го пальца

Fig. 1. X-ray of the left-hand confirming polydactyly of the thumb



Рис 2. Разметка разрезов на сегментах удвоенного первого пальца

Fig. 2. Preoperative marking of incisions on segments of the doubled thumb

2013 г. начато лечение перитонеальным диализом. По месту жительства проводилось молекулярно-генетическое исследование – данных за патогенную мутацию не получено (описание не предоставлено). Диагноз установлен на основании клинических признаков (полидактилия, нарушение функции почек, дистрофия сетчатки, ожирение).

В возрасте 6 лет 23.11.2015 г. поступила в НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова с диагнозом «ХПН в терминальной стадии в исходе поликистоза» для трансплантации почки от родственного донора (от отца). При осмотре обращало на себя внимание ожирение (ИМТ 28,8 кг/м^2), короткая шея, косоглазие, наличие признаков оперативного вмешательства на кистях обеих рук (оперированная полидактилия).

25.11.2015 г. выполнена АВ0-совместимая родственная трансплантация почки справа (от отца). Проведена индукционная терапия, включавшая в себя базиликсимаб, метилпреднизолон. Назначена следующая поддерживающая терапия: такролимус, микофеноловая кислота, метилпреднизолон. Функция трансплантата немедленная. На 9-е сутки появилась лихорадка, выявлены признаки инфекции мочевой системы. Временно проводилось снижение иммуносупрессивной терапии (отменен микофенолата мофетил). На момент выписки креатинин сыворотки составлял 37 мкмоль/л. В дальнейшем наблюдалась нефрологом по месту жительства в г. Санкт-Петербурге. В НМИЦ ТИО на контроль не приезжала. Со слов матери, эпизодов инфекции мочевой системы и дисфункции нефротрансплантата за время наблюдения не отмечено.

Наблюдается у офтальмолога с диагнозом «тапеторетинальная абиотрофия центральная и периферическая; оперированное сходящееся косоглазие; гиперметропический астигматизм обоих глаз; глубокие и поверхностные друзы диска зрительного нерва обоих глаз». Страдает ожирением 2-й степени.

В 2017 году в связи с прогрессирующими осевыми деформациями нижних конечностей было проведено оперативное лечение – временный гемиэпифизеодез дистальной зоны роста бедренной кости и дистальных зон роста большеберцовых костей (рис. 4). После достижения коррекции за счет «управляемого роста» металлоконструкции были удалены в 2019 г.

В ходе осмотра неврологом от 18.03.2019 выявлена задержка двигательного развития. У пациентки имеется легкая асимметрия лица, сходящееся косоглазие, превалирующее слева. Мышечный тонус снижен. Сухожильные рефлексы живые. Патологические рефлексы отсутствуют. При ходьбе припадает на левую ногу. Вегетативные проявления: хондродисплазия, короткопалость, стигмы дизэмбриогенеза. Эмоциональный статус лабильный. Выставлен следующий диагноз: расстройство вегетативной нервной системы неуточненное, кардиалгии. Нарушений интеллекта не выявлено.

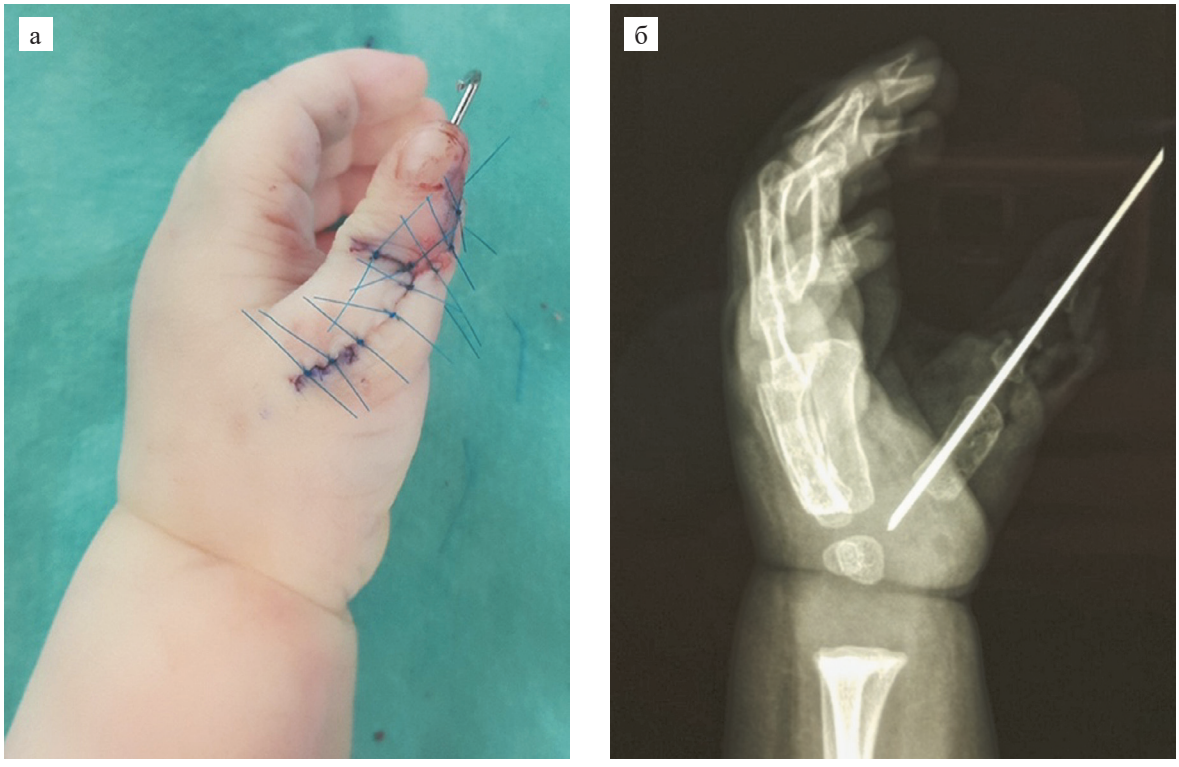


Рис. 3. Результат реконструкции 1-го пальца, фиксация спицей: а – внешний вид; б – рентгенограмма

Fig. 3. Postoperative result of reconstruction of the thumb with fixation using a surgical pin: a – external view; б – X-ray image

Концентрация такролимуса С0 от 03.2022 – 7,3 нг/мл, креатинин – 68 мкмоль/л, мочевина – 6,9 ммоль/л, общий белок – 76 г/л, фосфор – 1,57 ммоль/л, калий – 4,8 ммоль/л, СПБ – 80 мг, гемоглобин – 144 г/л, лейкоциты – 7,8 тыс., тромбоциты – 306 тыс., СОЭ – 10 мм/ч.

В декабре 2023 года перенесла ОРВИ с повышением температуры до 38–38,6 °С, лечились симптоматически с положительным эффектом. В анализах крови от 05.03.2024 повышение АЛТ (106,1 ед/л), АСТ (62,8 ед/л), ГГТ (337,7 ед/л), нейтрофилов (47,2%), лимфоцитов (40,1%), эозинофилов (4,9%) и базофилов (1%). Общий анализ крови и мочи – без особенностей. Креатинин 64 мкмоль/л (СКФ CKD-EPI 124,9 мл/мин/1,73 м^2). В январе 2024 года ОРВИ с повышением температуры, терапия симптоматическая с положительным эффектом. В связи с ухудшающимся зрением девочка учится в домашних условиях. На момент консультации 13.11.2024 (рис. 5) пациентка получала такролимус (програф) по 1,5 мг 2 раза в день, микофенолата мофетил по 180 мг 2 раза в день, метилпреднизолон 4 мг/сут внутрь, кардиомагнил, омепразол 20 мг внутрь. В анализах крови лимфоцитоз (45,55%) и повышение паращитовидного гормона до 90,38 пг/мл, креатинин 65,9 мкмоль/л (СКФ CKD-EPI 119,72 мл/мин/1,73 м^2).

Ультразвуковое исследование почек, надпочечников и забрюшинного пространства от 12.11.2024 показало удовлетворительный кровоток и структуру почечного трансплантата, индексы, характеризующие сосудистое сопротивление, в пределах допустимых значений.

Также проведен осмотр стоматологом 20.03.2025. В ходе обследования не было обнаружено каких-либо особенностей.

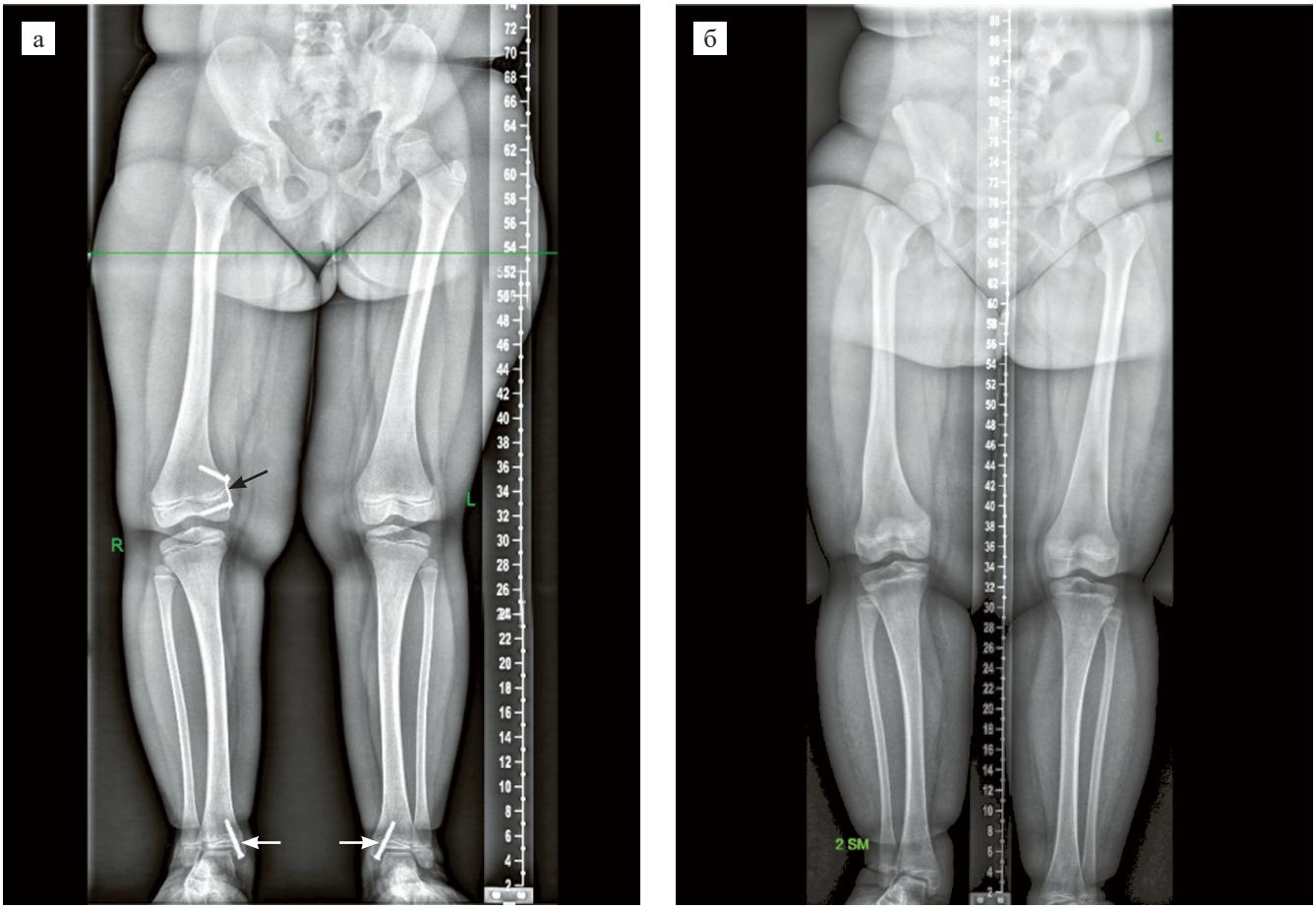


Рис. 4. Рентгенограмма нижних конечностей в положении стоя в прямой проекции: а – состояние после операции, направленной на коррекцию осевых деформаций нижних конечностей: установлена пластина для временного гемиэпифизеодеза медиального отдела дистальной зоны роста бедренной кости (черная стрелка) и трансфизарный винт для временного гемиэпифизеодеза медиального отдела дистальной зоны роста большеберцовой кости с двух сторон (белые стрелки); б – после удаления металлоконструкций: нормализация механических осей конечностей

Fig. 4. X-ray of the lower limbs in a standing projection: a – showing the condition after surgery performed to correct axial deformities of the lower limbs: a plate for temporary hemiepiphysiodesis of the medial part of the distal femoral growth plate (black arrow) and a transphyseal screw for temporary hemiepiphysiodesis of the medial part of the distal tibial growth plate on both sides (white arrows); б – after removal of the metal fixation structures, demonstrating normalization of the mechanical axes of the lower limbs



Рис. 5. Фотография пациентки от 13.11.2024

Fig. 5. Photograph of the patient dated November 13, 2024

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным регистра пациентов с синдромом Барда–Бидля (206 человек), в период с 1982-го по 2015 год 18 из этих пациентов перенесли трансплантацию почки, в некоторых случаях повторную, всего было пересажено 22 почки.

Общая выживаемость трансплантата составила 81,6% через год после трансплантации, 75,7% – через 5 лет, 59% – через 10 лет и 49,2% – через 25 лет. Выживаемость пациентов составила 94,4% через год после трансплантации, 87,2% – через 8 лет и 79,3% – через 25 лет [8].

Долгосрочные результаты у пациентов с синдром Барда–Бидля в целом благоприятны и оказались сопоставимыми с результатами трансплантации почки в общей популяции [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на наличие тяжелых врожденных патологий у пациентки, в данном клиническом случае представлена успешная трансплантация почки с минимальным количеством осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде, с сохранением хорошей функции трансплантата в течение 10 лет и высокой степени медико-социальной реабилитации. У пациентки имеется сохранный интеллект, что позволяет ей проходить школьную программу в рамках домашнего обучения с перспективой сдачи экзаменов на золотую медаль и дальнейшей успешной социализацией.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Потрохова ЕА, Бабаян МЛ, Балева ЛС, Сафонова МП, Сипягина АЕ*. Синдром Барде–Бидля. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2020; 65 (6): 76–83. *Potrokhova EA, Babayan ML, Baleva LS, Safonova MP, Sipyagina AE*. Bardet–Biedl Syndrome. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. 2020; 65 (6): 76–83. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-6-76-83.
2. *Ansari MR, Junejo AM*. Bardet–Biedl syndrome presenting with end stage renal failure. *J Coll Physicians Surq Pak*. 2006 Jul; 16 (7): 487–488.
3. *Forsythe E, Kenny J, Bacchelli C, Beales PL*. Managing Bardet–Biedl Syndrome – Now and in the Future. *Front Pediatr*. 2018; 6: 23. https://doi.org/10.3389/fped.2018.00023.
4. *Forsythe E, Beales PL*. Bardet–Biedl syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2013; 21 (1): 8–13. https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.115.
5. *Nowak-Ciołek M, Ciołek M, Tomaszewska A, Hildebrandt F, Kitzler T, Deutsch K et al*. Collaborative effort: managing Bardet–Biedl syndrome in pediatric patients. Case series and a literature review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024; 15: 1424819. https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1424819.
6. *Forsythe E, Sparks K, Best S, Borrows S, Hoskins B, Sabir A et al*. Risk Factors for Severe Renal Disease in Bardet–Biedl Syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2017; 28 (3): 963–970. https://doi.org/10.1681/ASN.2015091029.
7. *Meyer JR, Krentz AD, Berg RL, Richardson JG, Pomeroy J, Hebbring SJ, Haws RM*. Kidney failure in Bardet–Biedl syndrome. *Clin Genet*. 2022 Apr; 101 (4): 429–441. doi: 10.1111/cge.14119.
8. *Haws RM, Joshi A, Shah SA, Alkandari O, Turman MA*. Renal transplantation in Bardet–Biedl Syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2016; 31 (11): 2153–2161. doi: 10.1007/s00467-016-3415-4.

Статья поступила в редакцию 20.08.2025 г.
The article was submitted to the journal on 20.08.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-52-61

НОВАЯ МОДЕЛЬ ПОДБОРА ПАРЫ «ДОНОР–РЕЦИПИЕНТ» С УЧЕТОМ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК И «БАЛАНСА РИСКОВ» ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

А.В. Шабунин[1, 2], П.А. Дроздов[1, 2], М.Г. Минина[1, 3], И.А. Милосердов[5], Е.В. Шутов[1, 2], И.В. Нестеренко[1, 2], С.А. Астапович[1], Д.А. Макеев[1], Д.А. Соломатин[1], И.И. Курбанов[1, 4], А.И. Юрик[1, 4]

[1] ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация
[2] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[3] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[4] ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация
[5] ГБУЗ «Московский клинический научно-исследовательский центр – Городская клиническая больница № 52 Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Российская Федерация

Цель: улучшить результаты трансплантации почки посредством разработки нового алгоритма подбора пары «донор–реципиент» с учетом «баланса рисков» и адаптации иммуносупрессивной терапии для каждого клинического случая, а также оценить эффективность и безопасность предложенной модели в сравнении со стандартным подходом. **Материалы и методы.** В исследование включены 712 реципиентов почечного трансплантата. В группу 1 (n = 472) вошли пациенты, которым трансплантация была выполнена в 2018–2023 гг. с использованием стандартного подхода к аллокации донорских органов и иммуносупрессии. Группа 2 (n = 240) включала реципиентов, оперированных в 2024–2025 гг. после внедрения новой модели подбора пары «донор–реципиент». Модель основана на стратификации реципиентов по иммунологическому риску и сопоставлении его с типом донора с целью исключения сочетания маргинальных донорских органов с реципиентами высокого риска. В зависимости от группы риска применялись модифицированные схемы индукционной иммуносупрессивной терапии и назначения ингибиторов кальциневрина. Основной конечной точкой являлась частота отсроченной функции трансплантата. Дополнительно анализировались частота инфекционных осложнений, острое отторжение, длительность госпитализации и пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии. **Результаты.** Частота отсроченной функции трансплантата в группе 2 составила 17,5% по сравнению с 37,1% в группе 1 ($p < 0,001$). Инфекционные осложнения развились у 6,3% пациентов группы 2 и у 13,1% пациентов группы 1 ($p = 0,007$). Медиана длительности госпитализации сократилась с 19 до 15 суток ($p < 0,001$). Статистически значимых различий по частоте острого отторжения и продолжительности пребывания в отделении реанимации выявлено не было. **Заключение.** Внедрение алгоритма подбора пары «донор–реципиент», основанного на принципе «баланса рисков», в сочетании с персонализированной иммуносупрессивной терапией позволило более чем в два раза снизить частоту отсроченной функции почечного трансплантата без увеличения риска острого отторжения.

Ключевые слова: трансплантация почки, подбор пары «донор–реципиент», отсроченная функция трансплантата, иммуносупрессивная терапия, иммунологический риск, маргинальный донор.

Для корреспонденции: Юрик Алексей Игоревич. Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 5. Тел. (902) 055-77-15. E-mail: a.i.yurik@mail.ru

Corresponding author: Alexey Yurik. Address: 5, Vtoroy Botkinsky Proezd, Moscow, 125284, Russian Federation. Phone: (902) 055-77-15. E-mail: a.i.yurik@mail.ru

A NEW RISK-BALANCED DONOR–RECIPIENT MATCHING MODEL INCORPORATING INDIVIDUAL CHARACTERISTICS IN KIDNEY TRANSPLANTATION

A.V. Shabunin[1, 2], P.A. Drozdov[1, 2], M.G. Minina[1, 3], I.A. Miloserdov[5], E.V. Shutov[1, 2], I.V. Nesterenko[1, 2], S.A. Astapovich[1], D.A. Makeev[1], D.A. Solomatin[1], I.I. Kurbanov[1, 4], A.I. Yurik[1, 4]

[1] Botkin Hospital, Moscow, Russian Federation
[2] Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation
[3] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[4] Sechenov University, Moscow, Russian Federation
[5] Moscow Clinical Research Center – Hospital No. 52, Moscow, Russian Federation

Objective: to improve kidney transplant (KT) outcomes by developing a risk-balance donor–recipient matching algorithm, with individualized immunosuppressive therapy, and to evaluate its efficacy and safety compared with the standard approach. **Materials and methods.** The study included 712 KT recipients. Group I (n = 472) comprised patients who underwent transplantation between 2018 and 2023 using the standard donor allocation and immunosuppression approach. Group II (n = 240) included recipients transplanted between 2024 and 2025 following the implementation of the new matching model. The proposed model stratifies recipients by immunological risk and aligns them with appropriate donor types, avoiding combinations of marginal donor organs with high-risk recipients. Based on risk stratification, modified induction immunosuppressive regimens and administration of calcineurin inhibitors were applied. The primary endpoint was the incidence of delayed graft function. Secondary outcomes included rates of infectious complications, acute rejection, length of hospital stay, and length of stay in the intensive care unit. **Results.** The incidence of delayed graft function was significantly lower in Group II compared with Group I (17.5% *vs* 37.1%, $p < 0.001$). Infectious complications were also reduced (6.3% *vs* 13.1%, $p = 0.007$). The median length of hospital stay decreased from 19 to 15 days ($p < 0.001$). No statistically significant differences were observed between the groups in terms of acute rejection rates or length of stay in the intensive care unit. **Conclusion.** The implementation of a risk-balanced donor–recipient matching algorithm, combined with personalized immunosuppressive therapy, substantially reduced the incidence of delayed graft function without increasing the risk of acute rejection.

Keywords: kidney transplantation, donor–recipient matching, delayed graft function, immunosuppressive therapy, immunological risk, marginal donors.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая болезнь почек (ХБП) остается одной из наиболее значимых медико-социальных проблем современности. По данным исследования Global Burden of Disease 2023, доля пациентов с терминальной стадией ХБП, требующей заместительной почечной терапии (ЗПТ), в мире достигает 0,05% от всего населения (≈4,6 млн человек), демонстрируя устойчивый рост в последние десятилетия [1]. Благодаря развитию программ органного донорства, внедрению в практику современных схем иммуносупрессивной терапии и совершенствованию хирургической техники трансплантация почки (ТП) в настоящее время признана «золотым стандартом» ЗПТ [2]. По данным Европейского регистра ERA Registry Annual Report 2021, пятилетняя выживаемость реципиентов почечных трансплантатов достигает 94,2%, что существенно превышает аналогичные показатели среди пациентов, продолжающих лечение гемодиализом и перитонеальным диализом [3].

Несмотря на достигнутые успехи, трансплантация почки остается вмешательством, сопряженным с риском развития как специфических, так и общих хирургических осложнений [4, 5]. Одним из наиболее распространенных и клинически значимых является отсроченная функция почечного трансплантата (ОФПТ), частота развития которой, по данным литературы, составляет от 20 до 50% [6]. ОФПТ представляет собой форму острого повреждения трансплантата, определяемую как необходимость проведения гемодиализа в течение первых семи суток после операции. Развитие данного осложнения ассоциировано с увеличением длительности госпитализации, риском инфекционных осложнений и снижением отдаленной выживаемости трансплантата [7]. Ранее нами было продемонстрировано, что развитие ОФПТ напрямую связано с рядом модифицируемых факторов риска, среди которых наличие донор-специфических

антител у реципиента (p = 0,025), длительность вторичной тепловой ишемии свыше 45 минут (p = 0,035) и повышенные концентрации такролимуса в раннем послеоперационном периоде (p = 0,013) [8].

Помимо реципиент-зависимых и периоперационных факторов существенное значение имеют характеристики донора. Расширение критериев посмертного донорства позволило значительно увеличить донорский пул, однако привело к росту доли трансплантатов с повышенным риском первичной дисфункции. Согласно данным литературы, частота развития ОФПТ при пересадке от стандартных доноров (SD) составляет в среднем 20–25%, от доноров с расширенными критериями (ECD) достигает 35–40%, а при использовании почек от неконтролируемых доноров с остановкой кровообращения (DCD) – 50% [9–11]. Одновременно с этим каждый реципиент обладает своим собственным уровнем иммунологического риска. Пожилые пациенты и лица, не имеющие предсуществующих донор-специфических антител, относятся к группе низкого риска. Напротив, молодые или сенсибилизированные реципиенты характеризуются высоким иммунологическим риском. С его повышением возрастает и необходимость в более интенсивной иммуносупрессивной терапии, включая поддержание высоких концентраций такролимуса в раннем послеоперационном периоде [12–15].

Таким образом, актуальной задачей клинической трансплантологии является разработка моделей, позволяющих оптимально сочетать характеристики донора и реципиента, стремясь к балансу между риском отсроченной функции почечного трансплантата и необходимостью в адекватной иммуносупрессии. Целью настоящего исследования стало улучшение результатов трансплантации почки посредством разработки нового алгоритма подбора пары «донор–реципиент» с учетом «баланса рисков» и адаптации иммуносупрессивной терапии для каждого клинического случая, а также оценка эффективности и безопасности предложенной модели в сравнении со стандартным подходом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На первом этапе исследования проведен ретроспективный анализ результатов лечения 472 пациентов, которым была выполнена трансплантация почки в ГБУЗ «ММНКЦ им. С.П. Боткина» ДЗМ в 2018–2023 гг., впоследствии вошедших в группу 1 исследования. Медиана возраста реципиентов составила 46 лет [IQR: 38–59], индекс массы тела – 25,4 кг/м^2 [IQR: 22,3–29,1]; мужчин было 276 (58,5%). У 449 пациентов (95,1%) на момент трансплантации проводилась заместительная почечная терапия, в том числе перитонеальный диализ – в 51 случае (10,8%); медиана длительности ЗПТ до операции составила 20,8 мес. (95% ДИ: 18,6–23,0). Трансплантацию почки в анамнезе имели 46 реципиентов (9,7%).

Донорский пул был представлен посмертными донорами: SD – 340 (72,1%), ECD – 104 (22,0%) и DCD – 28 (5,9%). Медиана возраста доноров составила 38 лет [IQR: 32–56], индекс массы тела – 24,3 кг/м^2 [IQR: 21,5–29,8]; мужчин – 228 (48,3%). Средняя длительность пребывания доноров в отделении реанимации и интенсивной терапии составила 44 часа [IQR: 36,7–58,0]; высокие дозы норадреналина (>1000 нг/мл) или использование ≥2 вазопрессоров отмечались в 142 случаях (30,1%). Медиана времени холодовой консервации составила 12,5 ч [IQR: 10,2–14,8], вторичной тепловой ишемии – 39,6 мин [IQR: 30,5–46,0], продолжительности операции – 3,6 ч (IQR: 3,0–4,0) (табл. 1).

Во всех наблюдениях группы 1 подбор пары «донор–реципиент» и проводимая иммуносупрессивная терапия соответствовали действующим на тот момент клиническим рекомендациям. Распределение органов осуществлялось в соответствии с принципами приоритета медицинских показаний с учетом возраста, а также совместимости по системам AB0 и HLA. При первичной трансплантации применялась индукционная иммуносупрессивная терапия базиликсимабом в дозе 20 мг. Среди пациентов, идущих на повторную пересадку почки, использовался антитимоцитарный глобулин (АТГ) в дозе 10 мг/кг.

Поддерживающая иммуносупрессия включала комбинацию такролимуса в дозе 0,1–0,2 мг/кг с началом приема до операции и целевыми концентрациями в крови 8–12 нг/мл в раннем послеоперационном периоде, микофенолата мофетила 1 г в сутки и метилпреднизолона, вводимого внутривенно в дозе 500 мг во время операции, на 3-и и 5-е сутки после с последующим переходом на пероральный прием преднизолона с постепенным снижением дозы до 5–10 мг/сут в течение 3–6 месяцев. С 2021 года в нашем центре применялся персонализированный протокол назначения такролимуса, при котором пациентам с суммой возраста и веса менее 105 препарат назначается в дозе 0,2 мг/кг, от 105 до 134 – 0,15 мг/кг и при сумме более 134 – 0,1 мг/кг [16].

В группе 1 были проанализированы непосредственные результаты трансплантации почки, включая частоту развития ОФПТ и продолжительность госпитализации. На основании проведенного анализа было принято решение разработать и внедрить в клиническую практику новый алгоритм подбора пары «донор–реципиент», а также оптимизировать протокол иммуносупрессивной терапии в зависимости от их сочетания.

Новая модель подбора пары «донор–реципиент»

С целью стратификации реципиентов были выделены три группы – высокого, среднего и низкого иммунологического риска. К категории высокого риска относили пациентов с трансплантацией почки в анамнезе или выраженной сенсибилизацией, характеризующейся уровнем донор-специфических антител (MFI) более 2000. К группе среднего риска были отнесены реципиенты в возрасте от 18 до 50 лет, которым выполнялась первичная трансплантация при MFI менее 2000. Группу низкого риска составили пациенты старше 50 лет без трансплантаций в анамнезе и не имевшие признаков выраженной сенсибилизации (рис. 1).

При наличии органа от стандартного донора приоритетно рассматривались кандидаты с высоким иммунологическим риском, реципиенты со средним и низким риском включались во вторую очередь. Органы от доноров с расширенными критериями распределялись между пациентами со средним и низким иммунологическим риском. При наличии доноров с остановкой кровообращения трансплантаты направлялись преимущественно реципиентам с низким риском, во вторую очередь – со средним (рис. 2).

У пациентов с высоким иммунологическим риском индукция иммуносупрессии проводилась тимоглобулином. Такролимус назначали до и после операции с целевыми концентрациями 8–12 нг/мл. Пациентам со средним иммунологическим риском при трансплантации от SD индукционная иммуносупрессия проводилась с использованием базиликсимаба. При пересадке ECD почки применялся тимоглобулин или базиликсимаб. Поддерживающая терапия включала такролимус, назначаемый до и после операции, с целевой концентрацией 8–10 нг/мл.

У пациентов с низким иммунологическим риском при трансплантации от SD индукционная терапия проводилась базиликсимабом. При трансплантации от ECD использовался тимоглобулин или базиликсимаб. В случае трансплантации от DCD применялись тимоглобулин, а поддерживающая терапия отличалась отсроченным назначением такролимуса, начиная с четвертых суток после операции. Целевые концентрации такролимуса составляли 7–9 нг/мл при стандартных донорах и 6–8 нг/мл при донорах с расширенными критериями и с остановкой кровообращения.

Назначение тимоглобулина проводилось под контролем абсолютного количества лимфоцитов в периферической крови, базиликсимаб назначался в дозе 20 мг. Интраоперационно всем пациентам вводился метилпреднизолон (1000 мг) перед реперфузией трансплантата; дозировки кортикостероидов и препаратов микофеноловой кислоты в рамках поддерживающей терапии не отличались от стандартной схемы (рис. 3). Во всех случаях назначения такролимуса в раннем послеоперационном периоде применялся препарат короткого действия.

Разработанный алгоритм был применен в 240 случаях в период с 2024-го по 2025 год (группа 2). Медиана возраста реципиентов составила 48 лет [IQR: 34–65], индекса массы тела – 26,8 кг/м^2 [IQR: 21,7–30,8]; мужчин было 134 (55,8%). У 231 пациента (96,3%) на момент трансплантации проводилась заместительная почечная терапия, в том числе перитонеальный диализ – в 22 случаях (9,2%); медиана длительности ЗПТ до операции составила 23,5 мес. (95% ДИ: 22,1–24,9). Трансплантацию почки в анамнезе имели 26 реципиентов (10,8%).

Донорский пул был представлен посмертными донорами: SD – 148 (61,6%), ECD – 70 (29,2%) и DCD – 22 (9,2%). Медиана возраста доноров составила 36 лет [IQR: 31–58], индекса массы тела – 26,8 кг/м^2 [IQR: 22,4–31,1]; мужчин было 119 (49,6%). Средняя длительность пребывания доноров в ОРИТ составила 43,5 ч [IQR: 35,8–63,7]; высокие дозы норадреналина (>1000 нг/мл) или использование ≥2 вазопрессоров отмечались в 92 случаях (38,3%). Медиана времени холодовой консервации составила 13,0 ч [IQR: 11,1–15,2], вторичной тепловой ишемии – 37,8 мин [IQR: 28,7–44,8], продолжительности операции – 3,4 ч (95% ДИ: 3,1–3,7).



Рис. 1. Схема стратификации реципиентов по степени иммунологического риска

Fig. 1. Schematic representation of recipient stratification according to immunological risk level

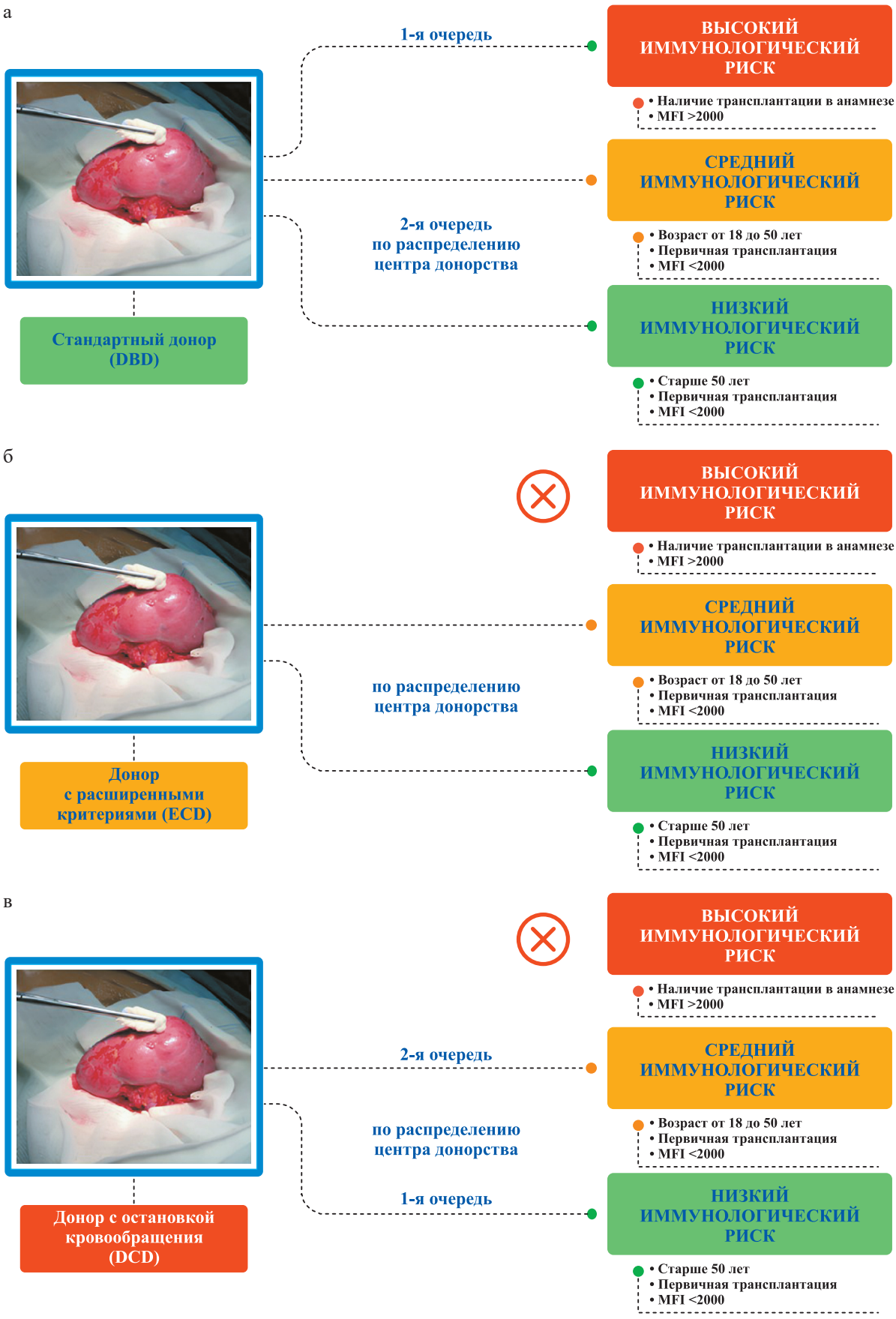


Рис. 2. Новый алгоритм подбора пары «донор–реципиент» с учетом «баланса рисков»: а – трансплантат от SD; б – трансплантат от ECD; в – трансплантат от DCD

Fig. 2. Proposed risk-balanced donor–recipient matching algorithm: а – transplantation from SD; б – transplantation from ECD; в – transplantation from DCD

а

Донор с остановкой кровообращения	Донор с расширенными критериями	Стандартный донор
✕	✕	**Индукционная иммуносупрессия** Тимоглобулин под **контролем абс. кол-ва лимфоцитов** Метилпреднизолон перед реперфузией **Поддерживающая иммуносупрессия** Такролимус *до/после операции, С0 8–12 нг/мл* Препараты микофеноловой кислоты Метилпреднизолон по схеме внутрь

б

Донор с остановкой кровообращения	Донор с расширенными критериями	Стандартный донор
✕	**Индукционная иммуносупрессия** Тимоглобулин под **контролем абс. кол-ва лимфоцитов** ИЛИ Базиликсимаб Метилпреднизолон перед реперфузией **Поддерживающая иммуносупрессия** Адваграф *до/после операции, С0 8–10 нг/мл* Препараты микофеноловой кислоты Метилпреднизолон по схеме внутрь	**Индукционная иммуносупрессия** Базиликсимаб Метилпреднизолон перед реперфузией **Поддерживающая иммуносупрессия** Адваграф *до/после операции, С0 8–10 нг/мл* Препараты микофеноловой кислоты Метилпреднизолон по схеме внутрь

в

Донор с остановкой кровообращения	Донор с расширенными критериями	Стандартный донор
Индукционная иммуносупрессия Тимоглобулин под **контролем абс. кол-ва лимфоцитов** Метилпреднизолон перед реперфузией **Поддерживающая иммуносупрессия** ***Отсроченный прием такролимуса, С0 6–8 нг/мл*** Препараты микофеноловой кислоты Метилпреднизолон по схеме внутрь	**Индукционная иммуносупрессия** Тимоглобулин под **контролем абс. кол-ва лимфоцитов** ИЛИ Базиликсимаб Метилпреднизолон перед реперфузией **Поддерживающая иммуносупрессия** **Такролимус *до/после операции, С0 6–8 нг/мл*** Препараты микофеноловой кислоты Метилпреднизолон по схеме внутрь	**Индукционная иммуносупрессия** Базиликсимаб Метилпреднизолон перед реперфузией **Поддерживающая иммуносупрессия** **Такролимус *до/после операции, С0 7–9 нг/мл*** Препараты микофеноловой кислоты Метилпреднизолон по схеме внутрь

Рис. 3. Модифицированный протокол иммуносупрессивной терапии с учетом характеристик доноров и реципиентов: а – для реципиентов с высоким иммунологическим риском; б – для реципиентов со средним иммунологическим риском; в – для реципиентов с низким иммунологическим риском

Fig. 3. Modified immunosuppressive therapy protocol tailored to donor and recipient characteristics: a – recipients with high immunological risk; б – recipients with moderate immunological risk; в – recipients with low immunological risk

Между группами не было выявлено статистически значимых различий по основным исходным характеристикам реципиентов, доноров и интраоперационным показателям (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительные характеристики групп исследования

Comparative characteristics of the study groups

Показатель	Группа 1, n = 472	Группа 2, n = 240	p
Характеристики реципиентов			
Возраст, лет	46 [IQR 38–59]	48 [IQR 34–65]	0,421
ИМТ, кг/м^2	25,4 [IQR 22,3–29,1]	26,8 [IQR 21,7–30,8]	0,317
Мужской пол, n (%)	276 (58,5)	134 (55,8)	0,553
Заместительная почечная терапия, n (%):			0,57
додиализные пациенты	23 (4,9)	9 (3,7)	
диализ в анамнезе:			
– гемодиализ	398 (84,3)	209 (87,1)	
– перитонеальный диализ	51 (10,8)	22 (9,2)	
Продолжительность заместительной почечной терапии, мес.	20,8 (95% ДИ: 18,6–23,0)	23,5 (95% ДИ: 22,1–24,9)	0,112
Трансплантация почки в анамнезе, n (%)	46 (9,7)	26 (10,8)	0,694
Характеристики доноров			
Возраст, лет	38 [IQR 32–56]	36 [IQR 31–58]	0,116
ИМТ, кг/м^2	24,3 [IQR 21,5–29,8]	26,8 [IQR 22,4–31,1]	0,249
Мужской пол, n (%)	228 (48,3)	119 (49,6)	0,808
Тип донора, n (%):			0,165
– SD	340 (72,1)	158 (65,8)	
– ECD	103 (21,8)	60 (25,0)	
– DCD	29 (6,1)	22 (9,2)	
Длительность нахождения в ОРИТ, ч	44 [IQR: 36,7–58,0]	43,5 [IQR: 35,8–63,7]	0,787
Выраженная прессорная поддержка, n (%)	643 (95,7)	92 (38,3)	0,231
Периоперационные показатели			
Время холодовой консервации, ч	12,5 [IQR: 10,2–14,8]	13,0 [IQR: 11,1–15,2]	0,885
Время вторичной тепловой ишемии, мин	39,6 [IQR: 30,5–46,0]	37,8 [IQR: 28,7–44,8]	0,396
Длительность операции, ч	3,6 (95% ДИ: 3,0–4,0)	3,4 (95% ДИ: 3,1–3,7)	0,482

Статистическая обработка и анализ данных

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics для Windows, версия 26.0 (IBM Corp., Армонк, Нью-Йорк, США). Для сравнения количественных показателей при нормальном распределении (в зависимости от равенства дисперсий) применяли t-критерий Стьюдента или t-критерий Уэлча. В случае ненормального распределения количественных данных использовали U-критерий Манна–Уитни (для двух групп) и критерий Краскела–Уоллиса (для трех групп и более). Сравнение качественных переменных производили с применением χ^2-критерия Пирсона или точного критерия Фишера. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Медиана наблюдения составила 34 месяца [IQR: 21–58] в группе 1 и 13 [IQR: 7–17] в группе 2 ($p < 0,001$) (табл. 2). Частота развития отсроченной функции почечного трансплантата была статистически значимо ниже при использовании нового алгоритма – 17,5% (42 из 240) в сравнении с 37,1% (175 из 472) ($p < 0,001$). Инфекционные осложнения отмечались реже у пациентов группы 2 – 6,3% по сравнению с 13,1% в группе 1 ($p = 0,008$). При этом частота острого клеточного отторжения оставалась сопоставимой – 5,0 и 3,4% соответственно ($p = 0,312$). Продолжительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии не различалась между

Таблица 2

Сравнительный анализ результатов трансплантации почки в зависимости от применения новой модели подбора пары «донор–реципиент» с учетом индивидуальных характеристик и «баланса рисков»

Comparative analysis of kidney transplant outcomes based on the use of a new risk-balanced donor-recipient matching model taking into account individual characteristics

Показатель	Группа 1, n = 472	Группа 2, n = 240	p
Медиана наблюдения, мес.	34 [IQR 21–58]	13 [IQR 7–17]	**<0,001**
Длительность нахождения в ОРИТ, сут.	2 [IQR 1–3]	2 [IQR 1–2]	0,336
Длительность госпитализации, сут.	19 [IQR 14–23]	15 [IQR 12–20]	**0,021**
ОФПТ, n (%)	175 (37,1)	42 (17,5)	<0,001
Острое отторжение, n (%)	16 (3,4)	12 (5,0)	0,312
Инфекционные осложнения, n (%)	62 (13,1)	15 (6,3)	**0,008**

группами – 2 [IQR: 1–3] и 2 [IQR: 1–2] суток соответственно (p = 0,336), тогда как общая длительность госпитализации была статистически значимо ниже при применении нового подхода – 15 [IQR: 12–20] и 19 [IQR: 14–23] суток (p = 0,021).

ОБСУЖДЕНИЕ

Трансплантация почки на сегодняшний день остается наиболее эффективным методом заместительной почечной терапии, обеспечивающим лучшие показатели выживаемости и качества жизни пациентов с терминальной стадией хронической болезни почек. Тем не менее даже в условиях постоянного совершенствования хирургической техники и широкого внедрения современных схем иммуносупрессии риск развития ряда осложнений продолжает оставаться значимой клинической проблемой, оказывающей влияние как на непосредственные, так и на отдаленные результаты трансплантации [17, 18]. Развитие осложнений определяется совокупностью модифицируемых и немодифицируемых факторов риска, и учитывая отсутствие возможности воздействия на последние, особое значение приобретает поиск оптимальных стратегий сочетания характеристик донора и реципиента с целью исключения суммирования рисков. Однако несмотря на логичность описанного подхода, опубликованные данные относительно его эффективности остаются противоречивыми.

В ряде работ отмечается, что попытки распределять донорские почки на основании иммунологического риска или других характеристик реципиента сами по себе не приводят к улучшению результатов трансплантации. В крупном исследовании Sethi et al. было показано, что пересмотр системы аллокации с приоритетным предоставлением трансплантатов лучшего качества высоко сенсибилизированным пациентам не сопровождался улучшением клинических результатов [19]. Аналогичные выводы получены и в других работах по оценке современных алгоритмов распределения органов, где показано, что усложнение схем аллокации и стратификация реципиентов не всегда приводят к статистически значимому улучшению клинических результатов, включая частоту отсроченной функции трансплантата, эпизодов острого отторжения, а также выживаемость реципиента и трансплантата [20].

Однако авторы других исследований делают выводы, что трансплантация почки от доноров после остановки кровообращения пациентам с высоким иммунологическим риском является нежелательной и ассоциирована с повышенной частотой развития ранних осложнений трансплантации почки [21]. Европейские рекомендации по трансплантации от DCD-доноров также указывают, что данный тип органов традиционно не распределяется реципиентам, идущим на повторную трансплантацию – группе, характеризующейся наиболее выраженным иммунологическим риском, – поскольку именно у этих пациентов отмечается максимальная частота ОФПТ и ПНФТ, а также худшие показатели выживаемости трансплантата [22].

В отношении модификации протокола иммуносупрессивной терапии на сегодняшний день единой концепции также не существует. С одной стороны, имеются работы, в которых показано, что рутинный пересмотр подхода к назначению такролимуса далеко не всегда приводит к улучшению результатов и в отдельных ситуациях может быть потенциально небезопасен. Так, в рандомизированном исследовании Ghadimi et al., сравнившем немедленное и отсроченное начало терапии такролимусом под прикрытием тимоглобулина, было отмечено, что подход не привел ни к снижению частоты и длительности отсроченной функции трансплантата, ни к улучшению показателей его функции, что указывает на отсутствие статистически значимого клинического преимущества при универсальном переносе начала терапии без тщательного отбора пациентов [23]. Более того, крупные систематические обзоры стратегий минимизации и отмены ингибиторов кальциневрина демонстрируют, что чрезмерное снижение экспозиции может сопровождаться повышением частоты острого клеточного отторжения и не ассоциируется с улучшением выживаемости трансплантата и реципиента, что существенно ограничивает применение подобных подходов вне строго определенных и клинически обоснованных случаев [24].

С другой стороны, в настоящее время накоплены данные, указывающие на то, что в ряде случаев изменение стандартного режима иммуносупрессии может быть клинически оправданным. В частности, при трансплантации почки от доноров с остановкой кровообращения особое значение приобретает риск ишемически-реперфузионного повреждения и ранней дисфункции трансплантата. В этих условиях отсроченное назначение такролимуса под прикрытием индукционной терапии антитимоцитарным глобулином рассматривается как патогенетически обоснованная стратегия. Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что подобный подход не приводит к увеличению частоты эпизодов острого отторжения по сравнению со стандартными режимами раннего назначения ингибиторов кальциневрина. Одновременно данный подход позволяет снизить риск ранней экспозиции нефротоксичных концентраций препарата в послеоперационном периоде. Это, в свою очередь, ассоциируется с уменьшением вероятности развития отсроченной функции почечного трансплантата и может способствовать улучшению непосредственных результатов трансплантации [25–26].

В настоящей работе продемонстрировано, что применение нового алгоритма подбора пары «донор–реципиент» с учетом «баланса рисков» и адаптация протокола иммуносупрессии позволили более чем двукратно снизить риск развития одного из ключевых осложнений трансплантации почки – отсроченной функции почечного трансплантата. Полученный эффект, вероятно, связан с пересмотром подхода в отношении сразу нескольких факторов риска развития ОФПТ: оптимизацией подхода к индукционной иммуносупрессивной терапии и сроков начала применения ингибиторов кальциневрина, снижением экспозиции нефротоксических концентраций такролимуса в раннем послеоперационном периоде; ключевую же роль сыграл пересмотр принципов аллокации почечных трансплантатов, исключивший возможность сочетания органов от маргинальных доноров с отягощенными по иммунологическому профилю реципиентами. Достижение оптимального баланса между эффективностью и безопасностью иммуносупрессии подтверждается не только снижением риска развития ОФПТ, но и уменьшением частоты инфекционных осложнений и сокращением длительности госпитализации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение алгоритма подбора пары «донор–реципиент», основанного на принципе «баланса рисков», в сочетании с персонализированной иммуносупрессивной терапией позволило более чем в два раза снизить частоту отсроченной функции почечного трансплантата без увеличения риска острого отторжения, что сопровождалось сокращением длительности госпитализации и более благоприятным течением раннего послеоперационного периода. Полученные результаты подтверждают, что персонализированное распределение донорских органов с учетом иммунологического профиля реципиента и типа донора является эффективным инструментом улучшения результатов трансплантации почки.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. GBD 2023 Kidney Failure with Replacement Therapy Collaborators. Global, regional, and national prevalence of kidney failure with replacement therapy and associated aetiologies, 1990–2023: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. *Lancet Glob Health*. 2025 Aug; 13 (8): e1378–e1395. doi: 10.1016/S2214-109X(25)00198-6. PMID: 40712611.
2. *Lentine KL, Smith JM, Lyden GR, Miller JM, Dolan TG, Bradbrook K et al*. OPTN/SRTR 2022 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant*. 2024 Feb; 24 (2S1): S19–S118. doi: 10.1016/j.ajt.2024.01.012. PMID: 38431360.
3. *Boerstra BA, Boenink R, Astley ME, Bonthuis M, Abd ElHafeez S, Arribas Monzón F et al*. The ERA Registry Annual Report 2021: a summary. *Clin Kidney J*. 2023 Nov 15; 17 (2): sfad281. doi: 10.1093/ckj/sfad281. Erratum in: *Clin Kidney J*. 2024 Oct 21; 17 (10): sfae311. doi: 10.1093/ckj/sfae311. PMID: 38638342; PMCID: PMC11024806.
4. *Minkovich M, Gupta N, Liu M, Famure O, Li Y, Selzner M et al*. Impact of early surgical complications on kidney transplant outcomes. *BMC Surg*. 2024 May 27; 24 (1): 165. doi: 10.1186/s12893-024-02463-7. PMID: 38802757; PMCID: PMC11129490.
5. *Хубутия МШ, Дмитриев ИВ, Балкаров АГ, Анисимов ЮА, Шмарина НВ, Загородникова НВ и др*. Трансплантация почки в одном трансплантационном центре: результаты, выводы, перспективы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (4): 90–99. *Khubutia MSh, Dmitriev IV, Balkarov AG, Anisimov YuA, Shmarina NV, Zagorodnikova NV et al*. Single-center experience in kidney transplantation: outcomes, conclusions, and perspectives. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (4): 90–99. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2024-4-90-99.
6. *Negret MA, Rodriguez MP, Díaz-Brochero C, Abril S, Grillo S, Garcia-Padilla P*. Impact of delayed graft function on overall and graft survival in recipients of deceased donor kidney transplants. *BMC Nephrol*. 2025 Nov 12; 26 (1): 633. doi: 10.1186/s12882-025-04540-2. PMID: 41225375; PMCID: PMC12613648.
7. *Yao Z, Kuang M, Li Z*. Risk factors for delayed graft function in patients with kidney transplantation: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2025 Mar 22; 15 (3): e087128. doi: 10.1136/bmjopen-2024-087128. PMID: 40122561; PMCID: PMC11934381.
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. [In Russ, English abstract]. doi: 10.23873/2074-0506-2022-14-3-265-277.
9. *Steenvoorden TS, Evers L, Vogt L, Rood JAJ, Kers J, Baas MC et al*. The differential impact of early graft dysfunction in kidney donation after brain death and after circulatory death: Insights from the Dutch National Transplant Registry. *Am J Transplant*. 2025 Mar; 25 (3): 556–566. doi: 10.1016/j.ajt.2024.09.030. PMID: 39343037.
10. *Cooper M, Wiseman AC, Doshi MD, Hall IE, Parsons RF, Pastan S et al*. Understanding Delayed Graft Function to Improve Organ Utilization and Patient Outcomes: Report of a Scientific Workshop Sponsored by the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 2024 Mar; 83 (3): 360–369. doi: 10.1053/j.ajkd.2023.08.018. PMID: 37844725.

11. *Шмарина НВ, Дмитриев ИВ, Хубутия БЗ, Пинчук АВ*. Трансплантации почек от доноров с расширенными критериями пожилым реципиентам в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. *Трансплантология*. 2018; 10 (3): 175–184. *Shmarina NV, Dmitriev IV, Khubutiya BZ, Pinchuk AV*. Transplantation of expanded criteria kidney grafts to elderly recipients in the N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2018; 10 (3): 175–184. [In Russ, English abstract]. doi: 10.23873/2074-0506-2018-10-3-175-184.
12. *Jallah BP, Kuypers DRJ*. Impact of Immunosenescence in Older Kidney Transplant Recipients: Associated Clinical Outcomes and Possible Risk Stratification for Immunosuppression Reduction. *Drugs Aging*. 2024 Mar; 41 (3): 219–238. doi: 10.1007/s40266-024-01100-5. PMID: 38386164.
13. *Morath C, Döhler B, Kälble F, Pego da Silva L, Echterdiek F, Schwenger V et al*. Pre-transplant HLA Antibodies and Delayed Graft Function in the Current Era of Kidney Transplantation. *Front Immunol*. 2020 Aug 26; 11: 1886. doi: 10.3389/fimmu.2020.01886. PMID: 32983110; PMCID: PMC7489336.
14. *Zecher D, Bach C, Staudner C, Böger CA, Bergler T, Banas B et al*. Characteristics of donor-specific anti-HLA antibodies and outcome in renal transplant patients treated with a standardized induction regimen. *Nephrol Dial Transplant*. 2017 Apr 1; 32 (4): 730–737. doi: 10.1093/ndt/gfw445. PMID: 28339671.
15. *Александрова ВО, Дмитриев ИВ, Боровкова НВ, Балкаров АГ, Мушта НА, Шмарина НВ и др*. Значение мониторинга анти-HLA антител в диагностике иммунологических осложнений после трансплантации почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (3): 91–98. *Aleksandrova VO, Dmitriev IV, Borovkova NV, Balkarov AG, Mushta NA, Shmarina NV et al*. Diagnostic value of anti-HLA antibody monitoring in the diagnosis of immunological complications following kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (3): 91–98. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2024-3-91-98.
16. *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, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2023-1-52-61.
17. *Hariharan S, Israni AK, Danovitch G*. Long-Term Survival after Kidney Transplantation. *N Engl J Med*. 2021 Aug 19; 385 (8): 729–743. doi: 10.1056/NEJMra2014530. PMID: 34407344.
18. *Poggio ED, Augustine JJ, Arrigain S, Brennan DC, Schold JD*. Long-term kidney transplant graft survival – Making progress when most needed. *Am J Transplant*. 2021 Aug; 21 (8): 2824–2832. doi: 10.1111/ajt.16463. PMID: 33346917.
19. *Sethi S, Najjar R, Peng A, Mirocha J, Vo A, Bunnapradist S et al*. Allocation of the Highest Quality Kidneys and Transplant Outcomes Under the New Kidney Allocation System. *Am J Kidney Dis*. 2019 May; 73 (5): 605–614. doi: 10.1053/j.ajkd.2018.12.036. PMID: 30929853.
20. *Moein M, Golkarieh A, Vlassis I, Saidi R, Lioudis M*. Comparative analysis of outcomes in high KDPI spectrum kidney transplants using unsupervised machine learning algorithm. *PLoS One*. 2025 Aug 26; 20 (8): e0324265. doi: 10.1371/journal.pone.0324265. PMID: 40857289; PMCID: PMC12380269.
21. *Schaapherder A, Wijermars LGM, de Vries DK, de Vries APJ, Bemelman FJ, van de Wetering J et al*. Equivalent Long-term Transplantation Outcomes for Kidneys Donated After Brain Death and Cardiac Death: Conclusions From a Nationwide Evaluation. *EClinicalMedicine*. 2018 Oct 9; 4–5: 25–31. doi: 10.1016/j.eclinm.2018.09.007. PMID: 31193600; PMCID: PMC6537547.
22. *Van Heurn LW, Talbot D, Nicholson ML, Akhtar MZ, Sanchez-Fructuoso AI, Weekers L et al*. Recommendations for donation after circulatory death kidney transplantation in Europe. *Transpl Int*. 2016 Jul; 29 (7): 780–789. doi: 10.1111/tri.12682. PMID: 26340168.
23. *Ghadimi M, Dashti-Khavidaki S, Khatami MR, Mahdavi-Mazdeh M, Gatmiri M, Minoo FS et al*. Comparing the Effect of Immediate versus Delayed Initiation of Tacrolimus on Delayed Graft Function in Kidney Transplant Recipients: A Randomized Open-label Clinical Trial. *J Res Pharm Pract*. 2018 Apr-Jun; 7 (2): 69–76. doi: 10.4103/jrpp.JRPP_17_90. PMID: 30050959; PMCID: PMC6036871.
24. *Sawinski D, Trofe-Clark J, Leas B, Uhl S, Tuteja S, Kaczmarek JL et al*. Calcineurin Inhibitor Minimization, Conversion, Withdrawal, and Avoidance Strategies in Renal Transplantation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Transplant*. 2016 Jul; 16 (7): 2117–2138. doi: 10.1111/ajt.13710. PMID: 26990455.
25. *Liu Y, Liu H, Shen Y, Chen Y, Cheng Y*. Delayed Initiation of Tacrolimus Is Safe and Effective in Renal Transplant Recipients With Delayed and Slow Graft Function. *Transplant Proc*. 2018 Oct; 50 (8): 2368–2370. doi: 10.1016/j.transproceed.2018.03.101. PMID: 30316359.
26. *Stumpf J, Budde K, Witzke O, Sommerer C, Vogel T, Schenker P et al*. Fixed low dose versus concentration-controlled initial tacrolimus dosing with reduced target levels in the course after kidney transplantation: results from a prospective randomized controlled non-inferiority trial (Slow & Low study). *EClinicalMedicine*. 2023 Dec 22; 67: 102381. doi: 10.1016/j.eclinm.2023.102381. PMID: 38152417; PMCID: PMC10751828.

Статья поступила в редакцию 28.01.2026 г.
The article was submitted to the journal on 28.01.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-62-67

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЭКСТРЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА У ПАЦИЕНТКИ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В РЕЗУЛЬТАТЕ СВЯЗАННОЙ С БЕРЕМЕННОСТЬЮ СПОНТАННОЙ ДИССЕКЦИИ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Т.А. Халилулин[1, 2], В.М. Захаревич[1, 2], К.С. Кирьяков[1], А.А. Сухачев[1], К.С. Филиппов[1], А.И. Симакова[1], Ш.Ф. Файзуллоев[1], Р.А. Якубов[3]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация
[3] ГАУЗ Республики Татарстан «Больница скорой медицинской помощи имени Р.С. Акчурина», Набережные Челны, Татарстан, Российская Федерация

Несмотря на редкость спонтанной диссекции коронарных артерий (СДКА), врачи должны учитывать этот диагноз у молодых женщин с острой коронарной симптоматикой в перипартальном периоде. Ключевое значение имеет мультидисциплинарный подход: своевременное взаимодействие кардиологов, кардиохирургов, реаниматологов и трансплантологов позволяет рассмотреть трансплантацию сердца как крайнюю, но потенциально спасительную меру при рефрактерной сердечной недостаточности. Таким образом, трансплантация сердца открывает новые возможности для лечения жизнеугрожающих кардиологических состояний в акушерской практике. Представленный клинический случай демонстрирует успешное применение трансплантации сердца как радикального метода лечения у 30-летней женщины со связанной с беременностью спонтанной диссекцией коронарных (СБ-СДКА) артерий после неэффективности стентирования, баллонной ангиопластики и механической поддержки кровообращения.

Ключевые слова: спонтанная диссекция коронарных артерий, острый инфаркт миокарда, терминальная сердечная недостаточность, трансплантация сердца.

EMERGENCY HEART TRANSPLANTATION IN A FEMALE PATIENT WITH ACUTE CORONARY SYNDROME CAUSED BY PREGNANCY-ASSOCIATED SPONTANEOUS CORONARY ARTERY DISSECTION: A CLINICAL CASE

T.A. Khalilulin[1, 2], V.M. Zakharevich[1, 2], K.S. Kiryakov[1], A.A. Sukhachev[1], K.S. Filippov[1], A.I. Simakova[1], Sh.F. Fayzulloyev[1], R.A. Yakubov[3]

[1] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation
[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation
[3]Akchurin Emergency Medical Care Hospital, Naberezhnye Chelny, Tatarstan, Russian Federation

Although spontaneous coronary artery dissection (SCAD) is a rare condition, it should be considered in young women presenting with acute coronary syndrome during the peripartum period. A multidisciplinary approach is essential: timely collaboration among cardiologists, cardiac surgeons, intensivists, and transplant specialists allows for the consideration of heart transplantation (HT) as a last-resort, yet potentially life-saving, intervention

Для корреспонденции: Халилулин Тимур Абдулнаимович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 190-29-71. E-mail: timur-medicina@list.ru

Corresponding author: Timur Khalilulin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 190-29-71. E-mail: timur-medicina@list.ru

in cases of refractory heart failure. Thus, HT expands therapeutic options for managing life-threatening cardiac conditions in obstetric practice. The presented clinical case demonstrates the successful use of heart transplantation as a definitive treatment in a 30-year-old woman with pregnancy-associated SCAD (P-SCAD), following unsuccessful attempts at revascularization, including stenting, balloon angioplasty, and mechanical circulatory support.

Keywords: spontaneous coronary artery dissection, acute myocardial infarction, end-stage heart failure, heart transplantation.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца представляет собой радикальный метод лечения, позволяющий кардинально решать проблему терминальной сердечной недостаточности у пациентов, находящихся в критическом состоянии. Свое окончательное решение в трансплантации сердца находит целый ряд ведущих к рефрактерной сердечной недостаточности кардиологических патологий, таких как дилатационная и ишемическая кардиомиопатия, некоторые формы злокачественных аритмий [1].

Однако некоторые кардиальные патологии зачастую не рассматриваются для радикального лечения методом пересадки сердца. Например, связанная с беременностью спонтанная диссекция коронарных артерий (СБ-СДКА) – одна из самых частых причин развития острого инфаркта миокарда, связанного с беременностью и послеродовым периодом, которая проявляется нетравматическим отслоением интимы коронарных сосудов и образованием интрамуральной гематомы, перекрывающей просвет сосуда, что, в свою очередь, дает клиническую картину, типичную для острого коронарного синдрома [2].

Факторы, предрасполагающие к подобному состоянию, – это фибромускулярная дисплазия, перипартальный период, более 4 родов в анамнезе, заболевания соединительной ткани, системные воспалительные заболевания, гормональная терапия и так далее [3]. На данный момент удалось выделить два возможных механизма развития СДКА. Первый из них – разрыв интимы коронарного сосуда с последующим формированием интрамуральной гематомы и обструкцией основного русла артерии. Второй, менее изученный – спонтанный разрыв *vasa vasorum* с формированием интрамуральной гематомы [4].

Подозревать данное состояние следует у любой молодой женщины с симптомами острого коронарного синдрома (ОКС) даже при отсутствии коронарного анамнеза, особенно находящейся в перипартальном периоде, так как СДКА встречается чаще именно у данной категории пациентов [5]. По данным O. Havakuk, S. Goland, A. Mehra et al., третий триместр и 30 дней после родов являются периодом с наибольшей частотой манифестации СДКА [6].

U. Elkayam et al. (2014) проанализировали данные коронарографий 129 женщин с ОКС (средний возраст 34 ± 6 лет), обусловленным СДКА. У 56 (43%) пациентов была выявлена СДКА, у 34 (27%) – атеросклероз коронарных артерий (КА), у 22 (17%) – тромбоз КА без признаков атеросклеротического поражения и у 14 (11%) – нормальные КА [7].

На данный момент не существует общепринятой стратегии для диагностики СДКА, связанных с беременностью. Наиболее часто применяются: коронароангиография для постановки первичного диагноза, внутрисосудистое ультразвуковое исследование, оптическая когерентная томография [8]. В связи с отсутствием крупных рандомизированных исследований до сегодняшнего дня не определена оптимальная тактика ведения пациенток с СБ-СДКА. Выделяют 2 подхода: консервативный, который рекомендуют гемодинамически стабильным пациентам, и первичное чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) у гемодинамически нестабильных пациентов с продолжающейся и/или рецидивирующей ангинозной болью или тотальной окклюзией коронарной артерии, особенно когда в поражение вовлечены ствол левой коронарной артерии или передняя нисходящая артерия.

ЧКВ при СДКА ассоциируется с высокой частотой перипроцедурных осложнений и низкими показателями ангиографического успеха. M. Tweet et al. (2014) в исследовании, которое включало 189 пациентов с СДКА, сообщили о безуспешной реваскуляризации (ЧКВ) в 53% (n = 95) случаев, а в 13% случаев пациентам потребовалось экстренное аортокоронарное шунтирование (АКШ) [9]. В Канадском многоцентровом исследовании сообщалось также, что из 109 проведенных ЧКВ перипроцедурный успех составлял 29,1% случаев, в 40,8% случаев ЧКВ было частично успешным, а в 30,1% случаев – безуспешным [10]. Кроме того, ЧКВ не уменьшало риск рецидива СДКА или необходимость повторной реваскуляризации целевой артерии в отдаленном периоде наблюдения. ЧКВ также связано с дополнительным риском ятрогенной диссекции коронарных артерий, развития мальпозиции стента в результате разрешения интрамуральной гематомы, что ведет к росту риска рестенозов [11]. По данным крупного многоцентрового исследования, которое включало 750 пациентов (средний возраст 51,8 ± 10,2; женщины – 88,5%) с СДКА, консервативная терапия проводилась в 86,4% (n = 648) случаев. При этом дополнительная реваскуляризация потребовалась в 2,3% случаев: ЧКВ – в 2%, а АКШ – в 0,3% [9].

Учитывая неоднозначность результатов инвазивной стратегии в случае нестабильных пациентов, недостаточность консервативной терапии и неэффективность менее радикальных методов, возможно рассмотреть иную стратегию жизнеспасающего лечения при терминальной сердечной недостаточности, вызванной СБ-СДКА. В тяжелых случаях при прогрессирующей сердечной недостаточности возможно проведение трансплантации сердца как радикального метода. Представленный клинический случай показывает пример применения трансплантации сердца как жизнеспасающего метода лечения при СБ-СДКА, возникшей в перипартальном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациентка С. 30 лет с жалобами на общую слабость, жжение в грудной клетке в тяжелом состоянии поступила в ГАУЗ Республики Татарстан «Больница скорой медицинской помощи» в июле 2025 года. На момент поступления пациентка беременна, срок – 31 неделя, вторая беременность. Ранее не имела коронарного анамнеза, однако на основании электрокардиографического исследования (ЭКГ) поставлен предварительный диагноз: острый инфаркт миокарда передней стенки левого желудочка с подъемом сегмента ST от 04.07.2025 г. По экстренным показаниям проведена коронароангиография (КАГ), которая выявила диссекцию передней межжелудочковой ветви (ПМЖВ) и огибающей артерии (ОА), окклюзию ПМЖВ, в правой коронарной артерии стенозов не было выявлено (рис. 1, а). По результатам КАГ выполнено стентирование ствола левой коронарной артерии, ПМЖВ, баллонная ангиопластика ОА (рис. 1, б). В связи с нестабильностью гемодинамики после ЧКВ инициирована процедура веноартериальной-экстракорпоральной мембранной оксигенации (ВА ЭКМО).

Несмотря на проведенные мероприятия, 05.07.2025 г. отмечалось ухудшение состояния: рецидив болевого синдрома и прогрессирование острой сердечной недостаточности (снижение фракции выброса (ФВ) до 33%), установлена система внутриаортальной баллонной контрпульсации (ВАБК). Повторно проведена коронарография, выполнено повторное стентирование ПМЖВ.

06.07.2025 г. выполнено успешное оперативное родоразрешение на сроке 31 неделя 6 дней путем лапаротомии по Джоэл-Кохену, кесарева сечения по Гусакову, также проведена эмболизация маточных артерий. В дальнейшем положительной динамики не отмечалось, в связи с выраженными застойными явлениями в малом круге кровообращения выполнена эндоваскулярная транссептальная постановка разгрузочной канюли ЭКМО в полость левого предсердия. Состояние пациентки осложнилось развившимся внутрибрюшным кровотечением из мягких тканей в области предшествующего лапаротомного доступа, в связи с чем 07.07.2025 проведена ревизия брюшной полости и забрюшинного пространства, санация гематомы, дренирование брюшной полости.

Проведена телемедицинская консультация с НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова. Принято решение о неотложном переводе пациентки в ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России са-

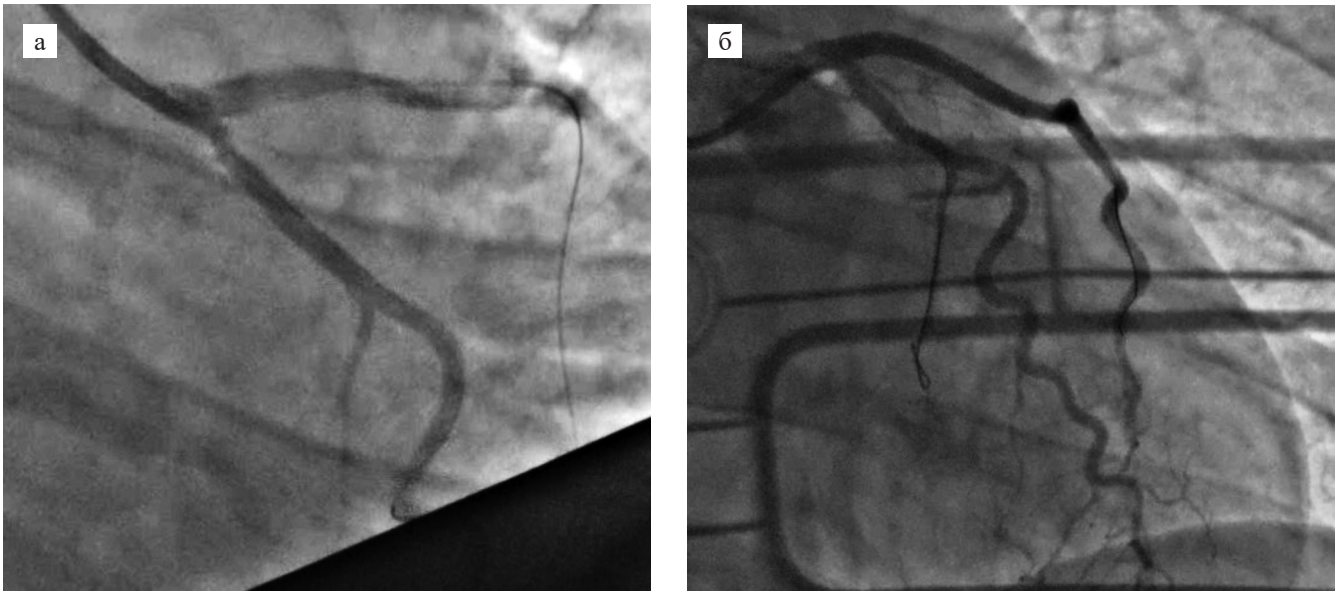


Рис. 1. Данные коронарографии от 04.07.2025: а – окклюзия дистального отдела ПМЖВ, стеноз устья ОА; б – результат выполненной ангиопластики

Fig. 1. Coronary angiography findings (July 4, 2025): a – occlusion of the distal segment of the left main coronary artery with stenosis at the origin of the left anterior descending artery; б – post-angioplasty result

нитарной авиацией Центра медицины катастроф. Состояние при транспортировке оставалось крайне тяжелым: пациентка находилась в состоянии медикаментозной седации, RASS (Richmond Agitation-Sedation Scale) – 2–3 балла, искусственная вентиляция легких в режиме BIPAP FiO_2 50%, гемодинамика стабилизирована на фоне инфузии инотропных препаратов. ВАБК 1 : 1. На ЭКГ – ритм синусовый с частотой сердечных сокращений 121–137 в мин. ЭКМО: 3,4 л/мин, 8500–8600 об/мин. По данным эхокардиографического исследования (ЭхоКГ): конечный диастолический объем (КДО) 115 мл, конечный систолический объем (КСО) 106 мл, ФВ – 5%. 09.07.2025 пациентка доставлена в отделение реанимации и интенсивной терапии НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова в крайне тяжелом состоянии с целью рассмотрения возможности трансплантации сердца.

Проведен консилиум, по результатам которого на основании данных клинико-инструментального обследования выявлены показания для выполнения трансплантации сердца. Учитывая неэффективность максимально переносимых доз медикаментозной терапии и бесперспективность дальнейшего консервативного лечения, пациентка была включена в ургентный лист ожидания трансплантации сердца в статусе 1А согласно критериям UNOS [12]. 10.07.2025 сохранялись признаки продолжающегося кровотечения из мягких тканей в области лапаротомии, в связи с чем пациентке проведена операция: срединная лапаротомия, ревизия, санация брюшной полости, гемостаз, постановка раневой вакуумной системы Vit-med.

В связи с наличием подходящего донорского сердца 11.07.2025 пациентке выполнена ортотопическая трансплантация сердца по бикавальной методике, тромбэктомия из нижней полой вены (рис. 2). Донор – мужчина 47 лет, КДО 89 мл, КСО 24 мл, ФВ 70%. Ранний послеоперационный период протекал на фоне миокардиальной недостаточности, требовавшей инфузии инотропных и вазопрессорных препаратов. ЭхоКГ от 12.07.2025: ФВ – 57%, КДО – 69, КСО – 30. Пациентка экстубирована в первые часы после операции.

В связи с улучшением общего состояния и стабилизацией гемодинамики на фоне регрессирующей миокардиальной недостаточности пациентка переведена 14.07.2025 г. в отделение стационара для дальнейшего наблюдения и лечения.

16.07.2025 г. в плановом порядке выполнена коронароангиография с забором эндомиокардиальной биопсии. По данным КАГ значимого стенотического поражения коронарных артерий трансплантата не выявлено. По результатам эндомиокардиальной биопсии признаков антителоопосредованного отторжения не выявлено, клеточное отторжение R0-1G (0-1A). Скорректирована иммуносупрессивная терапия. Начата пульс-терапия метилпреднизолоном в суточной дозировке 500 мг.

18.07.2025 г. в условиях операционной проведено удаление системы вакуумной аспирации раны, ушивание передней брюшной стенки. Без особенностей.

По результатам ЭКГ от 21.07.2025: миграция водителя ритма по предсердиям – синусовый, предсердный ритм, со средней частотой сердечных сокращений 98 уд/мин; эпизоды групповых наджелудочковых экстрасистол (из 3-х и 4-х комплексов QRS), короткие пробежки фибрилляции предсердий

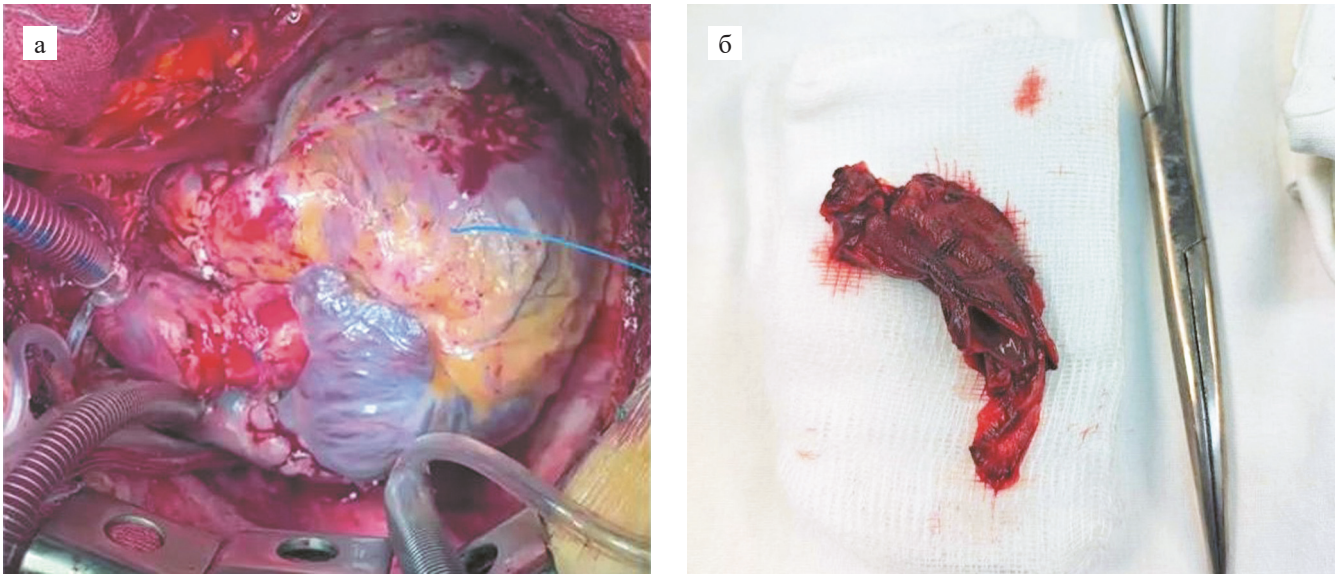


Рис. 2. Интраоперационный вид: а – полость перикарда перед выполнением трансплантации; б – удаленный тромб из нижней полой вены

Fig. 2. Intraoperative view: a – pericardial cavity prior to transplantation; б – thrombus removed from the inferior vena cava

(тахисистолическая форма). В дальнейшем ритм синусовый. По результатам ЭхоКГ 21.07.2025: функция правого и левого желудочка удовлетворительная, ФВ 61%, жидкость в полости перикарда 50 мл.

Пациентка жаловалась на выпадение левых полей зрения, сильные головные боли. Проведена магнитно-резонансная томография головного мозга, по результатам которой выявлена картина очага острой ишемии в правой гемисфере затылочной доли. Была консультирована врачом-неврологом. Скорректирована терапия совместно с врачом-неврологом.

Проведен скрининг на тромбофилии (полиморфизм в генах протромбина, фактора Лейдена, F2, FS, MTHFR, MTRR, MTR, протеин C, протеин S, AT-III), антифосфолипидный синдром (lg G, M к кардиолипину, IgGi, M к β2-гликопротеину, ревматоидный фактор, волчаночный антикоагулянт, антинуклеарный фактор). Получены отрицательные результаты.

31.07.2025 зафиксирован эпизод фибрилляции предсердий с частотой 130–205 уд/мин длительностью около минуты. Данные анализа кислотно-основного состояния – без особенностей. По ЭхоКГ: фракция выброса 52%, гиподискинез межжелудочковой перегородки, межжелудочковая перегородка 1,4–1,45 см. На основании инструментальных данных и клинической картины было принято решение о проведении одного сеанса плазмафереза. 01.08.2025 проведена повторная ЭМБ, по результатам которой выявлено клеточное отторжение R0-1G (0-1A) pAMR 0, признаков антителоопосредованного отторжения не выявлено. Начата повторная пульс-терапия метилпреднизолоном в суточной дозе 1000 мг в течение 3 дней, с контролем гликемического профиля. По результатам ЭхоКГ от 04.08.2025: ФВ 61%, межжелудочковая перегородка 1,3–1,4 см.

08.08.2025 проведено электрофизиологическое исследование, по результатам которого показаний для установки электрокардиостимулятора и проведения радиочастотной абляции аритмогенных зон не выявлено.

На фоне проведенного лечения функция трансплантата удовлетворительная, КДО 49 мл, КСО 16 мл, ударный объем 33 мл, ФВ 67%, система вакуумной терапии послеоперационной раны удалена, общемозговой и очаговой неврологической симптоматики не наблюдается, нарушений двигательной, чувствительной функций не отмечается, значимых нарушений ритма не выявлено. Пациентка выписана на 39-е сутки с момента операции в стабильном состоянии.

ОБСУЖДЕНИЕ

В структуре причин материнской смертности болезни органов кровообращения занимают важное место, составляя 10–15% случаев. Более половины случаев материнской смертности, обусловленных патологией органов кровообращения, наступают в результате ишемической болезни сердца (ИБС), расслаивающей аневризмы аорты, перипартальной кардиомиопатии (КМП) [13]. При этом диагноз перипартальной КМП считается диагнозом исключения, устанавливаемым лишь в случае исключения всех иных причин сердечной недостаточности. Согласно литературным данным, до 10% пациенток с перипартальной КМП потребуется трансплантация сердца. Несмотря на высокие иммунологические риски и тяжелое течение послеоперационного периода, у пациенток данной категории трансплантация сердца рассматривается как безальтернативный метод лечения [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай демонстрирует, что спонтанная диссекция коронарных артерий, хотя и является редким осложнением беременности и послеродового периода, может приводить к обширному необратимому повреждению миокарда. Когда развивается кардиогенный шок, рефрактерный к медикаментозной терапии и механической поддержке кровообращения, трансплантация сердца остается единственным методом лечения, позволяющим спасти жизнь молодой пациентки. Данное наблюдение подчеркивает необходимость высокой настороженности в отношении СДКА у беременных и родильниц с острой коронарной симптоматикой, а также важность мультидисциплинарного подхода с участием кардиологов, кардиохирургов и реаниматологов для определения оптимальной тактики ведения, включая рассмотрение трансплантации как крайней, но жизнеспасающей меры. Несмотря на предпочтительность консервативного подхода при многих случаях СДКА, существуют формы заболевания, молниеносно ведущие к тотальному поражению миокарда, поэтому раннее привлечение команды трансплантологов и рассмотрение трансплантации сердца как опции лечения критически важно при прогрессирующей сердечной недостаточности, не поддающейся контролю. Несмотря на редкость подобной клинической ситуации, данный случай расширяет представления о возможностях лечения жизнеугрожающих состояний в кардиологии и акушерстве. Несмотря на разрозненность и редкость случаев СДКА, накопленный опыт уже позволяет наметить стратегии ведения пациентов, однако требуется дальнейшее проведение исследований для определения оптимальной тактики ведения данных пациентов.

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 2024 году. XVII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (3): 8–32. *Gautier SV, Khomyakov SM*. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2024. 17th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (3): 8–32. [In Russ, English abstract]. doi 10.15825/1995-1191-2025-3-8-32.
2. *Zeven K*. Pregnancy-associated spontaneous coronary artery dissection in women: a literature review. *Curr Ther Res Clin Exp*. 2023 Mar 1; 98: 100697. doi: 10.1016/j.curtheres.2023.100697.
3. *Saw J, Mancini GJ, Humphries K, Fung A, Boone R, Starovoytov A et al*. Angiographic appearance of spontaneous coronary artery dissection with intramural hematoma proven on intracoronary imaging. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2016; 87 (2): E54–E61. doi: 10.1002/ccd.26022.
4. *Зайнобидинов ШШ, Хелимский ДА, Баранов АА, Бадоян АГ, Крестьянинов ОВ*. Современные аспекты диагностики и лечения пациентов со спонтанной диссекцией коронарных артерий. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022; 21 (8): 3193. *Zainobidinov ShSh, Khelimsky DA, Baranov AA, Badoyan AG, Krestyaninov OV*. Modern aspects of diagnosis and treatment of patients with spontaneous coronary artery dissection. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022; 21 (8): 3193. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15829/1728-8800-2022-3193.
5. *Apostolović S, Ignjatović A, Stanojević D, Radojković D, Nikolić M, Milošević J et al*. Spontaneous coronary artery dissection in women in the generative period: clinical characteristics, treatment, and outcome – a systematic review and meta-analysis. *Front Cardiovasc Med*. 2024; 11: 1277604. doi: 10.3389/fcvm.2024.1277604.
6. *Havakuk O, Goland S, Mehra A, Elkayam U*. Pregnancy and the risk of spontaneous coronary artery dissection: an analysis of 120 contemporary cases. *Circ Cardiovasc Interv*. 2017; 10 (3): e004941. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.117.004941.
7. *Elkayam U, Jalnapurkar S, Barakkat MN, Khatri N, Kealey AJ, Mehra A, Roth A*. Pregnancy-associated acute myocardial infarction: a review of contemporary experience in 150 cases between 2006 and 2011. *Circulation*. 2014; 129 (16): 1695–1702. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002054.
8. *Yip A, Saw J*. Spontaneous coronary artery dissection – a review. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2015 Feb; 5 (1): 37–48. doi: 10.3978/j.issn.2223-3652.2015.01.08.
9. *Tweet MS, Eleid MF, Best PJ, Lennon RJ, Lerman A, Rihal CS et al*. Spontaneous coronary artery dissection: revascularization versus conservative therapy. *Circ Cardiovasc Interv*. 2014; 7 (6): 777–786. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.114.001659.
10. *Saw J, Starovoytov A, Humphries K, Sheth T, So D, Minhas K et al*. Canadian spontaneous coronary artery dissection cohort study: in-hospital and 30-day outcomes. *Eur Heart J*. 2019; 40 (15): 1188–1197. doi: 10.1093/eurheartj/ehz007.
11. *Lempereur M, Fung A, Saw J*. Stent mal-apposition with resorption of intramural hematoma with spontaneous coronary artery dissection. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2015; 5 (4): 323–329. doi: 10.3978/j.issn.2223-3652.2015.04.05.
12. *Liu J, Yang B, Itoh A, Masood M, Hartupee J, Schilling J*. Impact of new UNOS allocation criteria on heart transplant practices and outcomes. *Transplant Direct*. 2020; 7: e642. doi: 10.1097/TXD.0000000000001088.
13. *Муркамилов ИТ, Айтбаев КА, Райимжанов ЗР, Юсупова ТФ, Юсупов ФА*. Перипартальная кардиомиопатия. *Бюллетень науки и практики*. 2023; 9 (5): 283–312. *Murkamilov I, Aitbaev K, Raimzhanov Z, Yusupova T, Yusupov F*. Peripartal Cardiomyopathy. *Bulletin of Science and Practice*. 2023; 9 (5): 283–312. [In Russ, English abstract]. doi: 10.33619/2414-2948/90/35.
14. *Bouabdallaoui N, Demondion P, Maréchaux S, Varnous S, Lebreton G, Mouquet F, Leprince P*. Heart transplantation for peripartum cardiomyopathy: a single-center experience. *Arq Bras Cardiol*. 2018 Feb; 110 (2): 181–187. doi: 10.5935/abc.20180014.

Статья поступила в редакцию 27.01.2026 г.
The article was submitted to the journal on 27.01.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-68-75

ВАСКУЛОПАТИЯ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА ПО ДАННЫМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ

Г.А. Тетерин, Н.А. Кочергин

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

Цель исследования: определить частоту выявления васкулопатии трансплантированного сердца (ВТС) с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) у пациентов после ортотопической трансплантации сердца (ОТС) и проанализировать ее влияние на клинические исходы. **Материалы и методы.** Выполнено одноцентровое ретроспективное когортное исследование, в котором были проанализированы данные пациентов, перенесших ОТС в период с 2013-го по 2024 год. Из исследования исключались пациенты с летальным исходом в 30-дневный период после ОТС. Всем пациентам в первую неделю после ОТС проводилась коронароангиография с целью выявления исходных коронарных поражений донорского сердца. В дальнейшем проводился рутинный ангиографический скрининг. При прогрессировании поражений или появлении стенозов *de novo* выполнялась ОКТ с целью оценки морфологии поражений. По результатам ОКТ реципиенты разделились на две группы: пациенты с ВТС и больные без ВТС. Конечными точками исследования были: инфаркт миокарда, реваскуляризация миокарда, кардиальная смерть, снижение фракции выброса левого желудочка в динамике. **Результаты.** В исследование включено 66 пациентов. При проведении ангиографического скрининга у 15 (22,72%) пациентов выявлены поражения коронарных артерий. После выполнения ОКТ только у 10 (15,15%) реципиентов была подтверждена ВТС. Передняя межжелудочковая артерия (ПМЖА) поражалась во всех случаях при ВТС. У пациентов с предсуществующими коронарными поражениями медиана времени до первых ангиографических находок составила 3,5 месяца, а у реципиентов без таковых – 25 месяцев. В группе ВТС у 4 (40,00%) пациентов зарегистрирован инфаркт миокарда, а в группе пациентов без ВТС ишемических событий не возникало ($p < 0,001$). Реваскуляризация миокарда потребовалась 7 (70,00%) пациентам с ВТС, в то время как в группе без ВТС была выполнена только одна процедура по поводу исходного поражения ПМЖА ($p = 0,005$). Медиана фракции выброса левого желудочка в группе ВТС снизилась с 66,00% до 57,50%, при этом значимой динамики систолической функции левого желудочка в группе пациентов без ВТС не наблюдалось ($p = 0,045$). **Заключение.** ОКТ позволяет диагностировать ВТС, причем во всех случаях локализация ВТС была характерна для бассейна ПМЖА. ВТС развивалась раньше у больных с предсуществующим коронарным атеросклерозом. Также ВТС ассоциировалась с риском инфаркта миокарда и коронарной реваскуляризацией, что приводило к снижению фракции выброса левого желудочка с последующим развитием сердечной недостаточности.

Ключевые слова: васкулопатия трансплантированного сердца, ортотопическая трансплантация сердца, оптическая когерентная томография, коронароангиография, фракция выброса левого желудочка, коронарный атеросклероз.

DIAGNOSIS OF CARDIAC ALLOGRAFT VASCULOPATHY USING OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY

G.A. Teterin, N.A. Kochergin

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

Objective: to determine the prevalence of cardiac allograft vasculopathy (CAV), detected by optical coherence tomography (OCT), in patients after orthotopic heart transplantation (OHT), and to analyze its impact on clinical outcomes. **Materials and methods.** The single-center retrospective cohort study analyzed data from patients who underwent OHT between 2013 and 2024. Patients who died within 30 days after transplantation were excluded

Для корреспонденции: Тетерин Георгий Александрович. Адрес: 650002, Кемерово, бульвар Академика Л.С. Барбараша, д. 6. Тел. (906) 980-67-89. E-mail: gogoshacom@gmail.com

Corresponding author: George Teterin. Address: 6, Barbarash boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation. Phone: (906) 980-67-89. E-mail: gogoshacom@gmail.com

from the analysis. All recipients underwent coronary angiography during the first week after transplantation to detect baseline coronary lesions in the donor heart. Subsequently, routine angiographic screening was performed. When lesion progression or development of *de novo* stenoses was suspected, additional evaluation using OCT was carried out to assess lesion morphology. Based on OCT results, recipients were divided into two groups: patients with and without CAV. The study endpoints included myocardial infarction, myocardial revascularization, cardiac death, and a decrease in left ventricular ejection fraction (LVEF) during follow-up. **Results.** The study included 66 patients. Coronary artery disease was detected in 15 patients (22.72%) during angiographic screening. However, subsequent assessment using OCT confirmed CAV in only 10 recipients (15.15%). In all confirmed cases, the left anterior descending (LAD) artery was involved. Among patients with pre-existing coronary lesions, the median time to the first angiographic detection was 3.5 months, compared with 25 months in recipients without baseline lesions. In the CAV group, myocardial infarction occurred in 4 patients (40.0%), whereas no ischemic events were observed in the non-CAV group ($p < 0.001$). Myocardial revascularization was required in 7 patients (70.0%) with CAV, while in the group without this condition, only one procedure was performed for an initial lesion of the LAD artery ($p = 0.005$). Median LVEF in the CAV group decreased from 66.0% to 57.5%, whereas no significant changes in left ventricular systolic function were observed in patients without CAV ($p = 0.045$). **Conclusion.** OCT enables reliable, early detection of CAV. In all confirmed cases, the lesions were localized around the LAD artery. CAV developed earlier in recipients with pre-existing coronary atherosclerosis. Moreover, the presence of CAV was associated with an increased risk of myocardial infarction and the need for coronary revascularization, which was accompanied by a decline in LVEF and subsequent development of heart failure.

Keywords: cardiac allograft vasculopathy, orthotopic heart transplantation, optical coherence tomography, coronary angiography, left ventricular ejection fraction, coronary atherosclerosis.

ВВЕДЕНИЕ

Васкулопатия трансплантированного сердца (ВТС) – это патологическое иммуноопосредованное ремоделирование коронарного русла сердечного аллографта, приводящее к нарушению коронарного кровообращения, и как следствие, к дисфункции трансплантата [1]. ВТС является значимым ограничивающим фактором в продолжительности и качестве жизни пациентов после успешной ортотопической трансплантации сердца (ОТС) [2]. Это состояние встречается у 47% реципиентов донорского сердца спустя 10 лет после ОТС и является главной кардиальной причиной смерти [3, 4]. Более того, быстропрогрессирующая ВТС в течение первого года после ОТС приводит к значимо более высокой частоте смертности или ретрансплантации в течение 5 лет [5].

Клиническая диагностика ВТС затруднена в связи с отсутствием чувствительной иннервации пересаженного сердца, и как следствие, характерной симптоматики боли ишемического происхождения [6]. В 2010 году The International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) предложило коронарную ангиографию (КАГ) как «золотой стандарт» скрининга ВТС [7]. Особенностью васкулопатии является образование диффузных концентрических стенозов, возникающих не только в крупных эпикардиальных ветвях, но и на уровне микроциркуляторного русла, в связи с чем возможности КАГ в ранней диагностике ограничены [1, 7, 8]. Более того, процесс формирования стеноза при ВТС двухфазный, и первая фаза включает в себя гиперплазию интимы с одномоментным расширением наружной эластической мембраны [1, 9]. Внутрисосудистое ультразвуковое исследование (ВСУЗИ) и оптическая когерентная томография (ОКТ) коронарных артерий доказали свою эффективность в ранней диагностике ВТС [7, 10, 11]. ОКТ обладает разрешающей способностью, в 10 раз превышающей ВСУЗИ, что позволяет получить поперечные изображения в высочайшем разрешении и увидеть самые начальные признаки гиперплазии интимы [11]. По мнению некоторых исследователей, ОКТ является лучшим методом для раннего выявления ВТС [10].

Первичная профилактика ВТС остается сложной задачей для кардиолога, терапевтические и хирургические подходы в лечении такой группы пациентов все еще ограничены [2]. Реваскуляризация миокарда при ВТС имеет ряд ограничений, обусловленных диффузностью поражения коронарного русла, включая микроциркуляторное звено [6].

Таким образом, ВТС остается актуальной проблемой, требующей дальнейших исследований и решений. На уровне клинической медицины раннее выявление и своевременная помощь пациенту с ВТС являются главной задачей современной кардиологии.

Цель исследования: определить частоту выявления ВТС с помощью ОКТ у пациентов после ортотопической трансплантации сердца и проанализировать ее влияние на клинические исходы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнено одноцентровое ретроспективное когортное исследование, в котором были проанализированы данные пациентов, перенесших ОТС в период с

2013-го по 2024 год. Из исследования исключались пациенты с летальным исходом в 30-дневный период после ОТС. Это обусловлено невозможностью выполнения скрининга ВТС с помощью КАГ и ОКТ в послеоперационном периоде.

Всем реципиентам в первую неделю после ОТС проводилась КАГ с целью выявления исходных коронарных поражений донорского сердца, которые мы считали за трансмиссивный коронарный атеросклероз. В дальнейшем проводилась скрининговая КАГ с периодичностью раз в 6 месяцев в течение первого года после ОТС и с периодичностью раз в 12 месяцев со второго года после операции с целью ранней диагностики ВТС. КАГ также выполнялась вместе с эндомиокардиальной биопсией пациентам, поступившим в стационар с появлением или нарастанием клиники сердечной недостаточности. При выявлении коронарных стенозов *de novo* и/или прогрессировании исходных поражений выполнялась ОКТ для определения их морфологии (рис.). Признаками ВТС считали однородную гиперплазию интимы, а атеросклеротической болезни – визуализацию липидных бляшек без признаков интимальной пролиферации.

По результатам ОКТ для дальнейшего анализа все пациенты были разделены на 2 группы: пациенты с ВТС (группа ВТС); пациенты без поражений или с атеросклеротическими поражениями коронарных артерий без признаков ВТС (группа без ВТС).

К конечным точкам исследования относились инфаркт миокарда, реваскуляризация миокарда, отрицательная динамика фракции выброса левого желудочка, кардиальная смерть. Медиана наблюдения за исследуемой выборкой пациентов составила 31,5 мес.

Статистические методы

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Jamovi версии 2.6.26 для операционной системы Windows 11. Количественные данные, не подходящие под нормальное распределение, представлены с помощью медианного значения и интерквартильного размаха (Me (Q1–Q3). Нормальность распределения оценивалась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Качественные характеристики представлены с использованием абсолютного числа и процентного соотношения. При оценке статистической значимости для количественных характеристик использовали U-критерий Манна–Уитни, для качественных характеристик – тест Фишера. Критическим уровнем статистической значимости считали 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика выборки

В исследовании был скринирован 81 пациент, перенесший ОТС. Из исследования исключено 15 больных с летальным исходом в 30-дневный период после



Рис. Дизайн исследования. КА – коронарная артерия; КАГ – коронароангиография; ОКТ – оптическая когерентная томография

Fig. Study design. КА – coronary artery; КАГ – coronary angiography; ОКТ – optical coherence tomography

операции. Таким образом, в исследование включено 66 пациентов. Преобладающая часть (89,40%) исследуемой выборки представлена мужчинами. Медиана возраста составила 56 лет. В исследуемой когорте 60,61% пациентов выполнена ОТС по поводу ишемической кардиомиопатии, 34,85% – по поводу дилатационной кардиомиопатии, на прочие кардиомиопатии пришлось 4,54% реципиентов. Из факторов сердечно-сосудистого риска в исследуемой выборке были представлены: артериальная гипертензия в 74,20% случаев, сахарный диабет – 24,20%, ожирение – 21,20%. Нарушения липидного обмена выявлены у 63,64% пациентов. Экстракоронарные атеросклеротические поражения определялись у 39,40% (табл. 1).

Ангиографическая характеристика

Исходные коронарные поражения донорского сердца были обнаружены у 13 (19,70%) пациентов. Стенотические изменения коронарного русла были обнаружены в бассейне передней межжелудочковой артерии (ПМЖА) у 11 (16,67%) пациентов, огибающей артерии (ОА) – у 3 (4,54%), ветви тупого края первого порядка – у 2 (3,03%), правой коронарной артерии (ПКА) – у 5 (7,57%). В ходе наблюдения у 5 пациентов было выявлено прогрессирование стенозов в коронарных артериях. После выполнения ОКТ у 4 реципиентов из 13 с исходными поражениями (30,76%) была установлена ВТС.

В процессе рутинного скрининга коронарные поражения *de novo* были выявлены у 10 (15,15%) пациентов. ОКТ коронарных артерий позволила дифференцировать ВТС и коронарный атеросклероз. Так, у 6 (60,00%) реципиентов из 10 с поражениями *de novo* подтверждена ВТС.

Таким образом, пациенты распределились в группы следующим образом: в первую группу вошли 10 пациентов, у которых была выявлена ВТС по данным ОКТ; во вторую группу определено 56 пациентов без признаков ВТС, в том числе с атеросклеротическими поражениями коронарного русла по результатам ОКТ.

Таблица 1

Общая характеристика исследуемой когорты пациентов

General characteristics of the study cohort

Характеристика	Общая выборка пациентов (n = 66)	Группа ВТС (n = 10)	Группа без ВТС (n = 56)	p
Клиническая характеристика				
Возраст, лет, Me (Q1–Q3)	56,00 (50,30–61,00)	59,50 (53,50–63,00)	56,00 (48,50–60,30)	0,152
Мужчины, n (%)	59 (89,40)	9 (90,00)	50 (89,30)	1,000
ИКМП, n (%)	40 (60,61)	9 (90,00)	31 (55,36)	0,075
ДКМП, n (%)	23 (34,85)	1 (10,00)	22 (39,30)	0,146
Прочие КМП, n (%)	3 (4,54)	0	3 (5,36)	0,454
Гипертоническая болезнь, n (%)	49 (74,24)	10 (100,00)	39 (69,64)	0,053
Сахарный диабет, n (%)	16 (24,24)	5 (50,00)	11 (19,64)	0,054
ИМТ, Me (Q1–Q3)	25,60 (23,80–29,20)	26,6 (24,80–31,00)	25,50 (23,80–28,80)	0,453
Нарушения липидного обмена, n (%)	42 (63,64)	8 (80,00)	34 (60,71)	0,306
МФА, n (%)	26 (39,39)	8 (80,00)	18 (32,14)	0,010
Число кризов острого отторжения трансплантата, Me (Q1–Q3)	1,50 (1,00–2,00)	1,50 (1,00–2,75)	1,00 (0,50–2,00)	0,491
Ангиографическая характеристика				
Ствол ЛКА, частота встречаемости, n (%)	4 (6,06)	3 (30,00)	1 (1,78)	0,010
ПМЖА, частота встречаемости, n (%)	13 (19,70)	10 (100,00)	3 (5,36)	<0,001
ОА, частота встречаемости, n (%)	4 (6,06)	4 (40,00)	0	<0,001
ВТК 1, частота встречаемости, n (%)	7 (10,61)	6 (60,00)	1 (1,78)	<0,001
ПКА, частота встречаемости, n (%)	8 (12,12)	7 (70,00)	1 (1,78)	<0,001

Примечание. ВТК 1 – ветвь тупого края первого порядка; ДКМП – дилатационная кардиомиопатия; ИКМП – ишемическая кардиомиопатия; ИМТ – индекс массы тела; КМП – кардиомиопатия; ЛКА – левая коронарная артерия; МФА – мультифокальный атеросклероз; ОА – огибающая артерия; ОТС – ортотопическая трансплантация сердца; ПКА – правая коронарная артерия; ПМЖА – передняя межжелудочковая артерия; Me (Q1–Q3) – медиана, 25-й и 75-й квартиль.

Note. ВТК 1 – first obtuse marginal branch; ДКМП – dilated cardiomyopathy; ИКМП – ischemic cardiomyopathy; ИМТ – body mass index; КМП – cardiomyopathy; ЛКА – left coronary artery; МФА – multifocal atherosclerosis; ОА – left circumflex artery; ОТС – orthotopic heart transplantation; ПКА – right coronary artery; ПМЖА – left anterior descending; Me (Q1–Q3) – median, 25th and 75th quartiles.

Таблица 2

Анализ конечных точек

Endpoint analysis

Конечная точка	Группа ВТС (n = 10)	Группа без ВТС (n = 56)	p
Инфаркт миокарда, n (%)	4 (40,00)	0	<0,001
Реваскуляризация миокарда, n (%)	7 (70,00)	1 (1,78)	0,005
Кардиальная смерть, n (%)	2 (20,00)	8 (14,28)	0,641
Фракция выброса левого желудочка в исходе госпитализации после ОТС, %, Me (Q1–Q3)	66,00 (60,00–67,80)	66,00 (63,00–69,00)	0,457
Фракция выброса левого желудочка в динамике наблюдения, %, Me (Q1–Q3)	57,50 (50,80–62,00)	64,5 (60,80–62,00)	0,045

Примечание. Me (Q1–Q3) – медиана и квартили.

Note. Me (Q1–Q3) – median and interquartile range.

По результатам КАГ у пациентов группы ВТС в 80,00% случаев имело место многососудистое поражение коронарного русла. Стенотические изменения с морфологией ВТС в проксимальной/средней трети ПМЖА обнаружены у 100,00% пациентов. Тяжесть коронарных поражений по классификации ISHLT: CAV 1 – 2 (20,00%); CAV 2 – 3 (30,00%); CAV 3 – 5 (50,00%).

В рамках анализа группы пациентов с ВТС было выявлено, что для реципиентов с исходными атеросклеротическими поражениями коронарного русла медианное значение срока обнаружения первых и/или прогрессирования стенотических изменений по КАГ составило 3,5 месяца, в то время как у пациентов с поражениями *de novo* это значение составило 25 месяцев (p = 0,019).

В группу пациентов без ВТС вошли реципиенты без стенотических изменений коронарного русла и с поражениями, представленными коронарным атеросклерозом по данным ОКТ. В данной группе встречались единичные фокальные ангиографически не значимые коронарные поражения. Наиболее часто стенотические изменения локализовались в бассейне ПМЖА.

Анализ конечных точек

Согласно данным КАГ, у 15 (22,72%) пациентов из исследуемой выборки возникли или усугубились коронарные поражения. Однако после проведения ОКТ лишь у 10 (15,15%) реципиентов была выявлена ВТС, остальные стенотические изменения в коронарном русле были представлены атеросклеротическими бляшками.

В группе ВТС ретроспективно установлен инфаркт миокарда у 4 (40,00%) пациентов. У реципиентов без ВТС за время наблюдения не было зарегистрировано ишемических событий (p < 0,001).

Потребность в реваскуляризации миокарда возникла у 7 (70,00%) пациентов из группы ВТС. Им было выполнено чрескожное коронарное вмешательство. Лишь 1 (1,78%) пациенту из группы без ВТС была выполнена операция коронарного шунтирования по поводу исходного стеноза ПМЖА донорского сердца одномоментно с ОТС (p = 0,005).

Кардиальная смерть зарегистрирована у 2 (20,00%) пациентов из группы ВТС и у 8 (14,28%) пациентов из группы без ВТС (p = 0,641). В первой группе больных причиной кардиальной смерти являлась коронарная недостаточность, в то время как во второй группе кардиальная смерть была обусловлена острым отторжением трансплантата с развитием острой сердечной недостаточности.

В группе ВТС за период наблюдения зафиксирована отрицательная динамика фракции выброса левого желудочка. Ее медианное значение снизилось с 66,00% до 57,50%. В группе пациентов без ВТС значимой динамики не наблюдалось (p = 0,045).

Конечные точки представлены в табл. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Успешный результат операций ОТС зависит от долгосрочного и непрерывного наблюдения за реципиентами донорского сердца [12]. По данным литературы, ВТС представляет угрозу для этой группы пациентов и требует ранней диагностики и коррекции терапии [13].

По сей день классификация ISHLT тяжести поражения при ВТС основана на КАГ ввиду ее доступности, однако методы внутрисосудистой визуализации, в частности ОКТ, позволяют диагностировать развитие ВТС значительно эффективнее. Но все еще не ясно, приводит ли ранняя диагностика ВТС к лучшим долгосрочным результатам, ведь терапевтические подходы остаются ограниченными [10, 13].

В исследовании T.S. Clemmensen et al. проанализированы результаты трехсосудистого ОКТ пациентов, перенесших ОТС: 59 снимков ПМЖА, 56 ОА, 57 ПКА. У 66% пациентов были выявлены начальные признаки развития ВТС [14]. Эта же группа ученых выполнила проспективное исследование, в котором

проводилось трехсосудистое ОКТ 26 пациентам через 3 и через 12 месяцев после ОТС. У 45% пациентов через 3 месяца после ОТС были обнаружены многослойные фиброзные бляшки, которые через 12 месяцев приводили к снижению соотношения просвета и комплекса интима–медиа сосуда [15].

Исследовательская группа N.M. Jensen et al. проводила анализ 64 пациентов, которым выполнялась ОКТ ПМЖА, ОА и ПКА. Было установлено, что ПМЖА значительно сильнее поражается ВТС по сравнению с ОА и ПКА, а ОКТ всех трех коронарных артерий по сравнению с проведением единственной ОКТ ПМЖА не имеет преимуществ в ранней диагностике и прогнозировании дальнейшего развития ВТС. Более того, однососудистое ОКТ ПМЖА снижает процедуральные риски, временные затраты и объем введенного контраста [16]. В нашем исследовании ПМЖА поражалась в 100,00% случаев у пациентов с выявленной ВТС. Был обнаружен многососудистый характер поражения у 80,00% пациентов с подтвержденной ВТС, что является одной из характерных особенностей развития данной патологии по сравнению с атеросклеротической болезнью сердца [17].

Влияние исходных атеросклеротических поражений донорского сердца на дальнейшее развитие ВТС оценивалось в проспективном исследовании H. Li et al. Группа ученых анализировала снимки ВСУЗИ у 301 пациента через 1,3 и 12,2 мес. после выполнения ОТС. Дополнительное ВСУЗИ проводилось 90 пациентам через 2 и 3 года после операции. Поражения донорского сердца были выявлены у 30% реципиентов. Через 3 года после операции по КАГ стенотические изменения в коронарных артериях находили чаще у пациентов с исходными поражениями: 25% против 4%. Тем не менее скорость прогрессирования гиперплазии интимы не отличалась у пациентов с исходными и без исходных поражений. Трехлетняя летальность пациентов с исходной атеросклеротической болезнью сердца не отличалась от таковой у реципиентов без исходных поражений коронарного русла донорского органа. Ученые пришли к выводу, что существующие атеросклеротические изменения в донорском сердце не влияют на ускорение прогрессирования гиперплазии интимы [18].

По данным нашего исследования, из 13 пациентов с трансмиссивными атеросклеротическими поражениями у 30,77% развилась ВТС. Болезнь манифестировала раньше, чем у реципиентов без исходных поражений. Возможно, таким больным следует интенсифицировать скрининговые наблюдения для ранней диагностики и коррекции медикаментозной терапии, однако данная гипотеза требует дальнейших проспективных исследований.

К такому же выводу пришли ученые в исследовании T. Watanabe et al. По данным их работы, предсуществующие коронарные поражения приводили к значительному увеличению объема бляшек через 1 год после выполнения ОТС, а в течение 3 лет наблюдалось прогрессирующее уменьшение просвета сосуда. За трехлетний период наблюдения у пациентов с исходными поражениями коронарных артерий развитие ВТС встречалось чаще, чем у реципиентов без исходных изменений в коронарном русле (58,8% против 5,6%) [19].

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование носит ретроспективный характер и является одноцентровым. Анализировалась относительно небольшая когорта пациентов. Стенозы, обнаруженные по КАГ в первую неделю после ОТС, считали за трансмиссивный коронарный атеросклероз, исключая возможность образования гиперплазии интимы в такие короткие сроки. Выбор пациентов для проведения ОКТ основывался на результатах ангиографического исследования, которое имеет меньшую чувствительность по сравнению с методиками внутрисосудистой визуализации. Несмотря на это, мы использовали мировой «золотой стандарт» и классифицировали тяжесть поражений по ISHLT. Таким образом, ОКТ коронарных артерий проводилась не всем реципиентам из выборки, что могло сказаться на результатах исследования, поскольку могли быть недооценены начальные изменения в сосудистой стенке, характерные для ВТС. В нашей работе не оценивался коронарный резерв кровотока или индекс микроциркуляторной резистентности, поэтому мы не можем достоверно судить о компрометации кровотока в микроциркуляторном русле. В связи с этим мы не могли доказать наличие поражений на уровне интрамуральных коронарных артерий.

Для дальнейшего изучения проблемы требуется выполнение крупных проспективных исследований с длительным периодом наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе скрининговых мероприятий у 22,72% пациентов подозревалось развитие ВТС. После выполнения ОКТ только у 15,15% пациентов из выборки была подтверждена ВТС. ПМЖА, по всей видимости, является главной мишенью для ВТС, поскольку была поражена у 100% пациентов с подтвержденной, по данным ОКТ, ВТС**.** ВТС развивалась раньше у пациентов с предсуществующими атеросклеротическими поражениями донорского сердца. Возможно, больным с трансмиссивным атеросклерозом донорского сердца следует проводить более агрессивный скрининг на предмет ВТС. Также ВТС ассоцииро-

валась с риском инфаркта миокарда и коронарной реваскуляризацией, что приводило к снижению фракции выброса левого желудочка с последующим развитием сердечной недостаточности.

Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ 0419-2025-0001 «Разработка тканеинженерных изделий медицинского назначения для сердечно-сосудистой хирургии с использованием методов внутрисосудистой визуализации, машинного обучения и искусственного интеллекта» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Pober JS, Chih S, Kobashigawa J, Madsen JC, Tellides G*. Cardiac allograft vasculopathy: current review and future research directions. *Cardiovasc Res*. 2021 Nov 22; 117 (13): 2624–2638. doi: 10.1093/cvr/cvab259. PMID: 34343276.
2. *Grundmann D, Neubarth-Mayer J, Müller C, Becker F, Reichart D, Stark K et al.* Progress of Angiographic Cardiac Allograft Vasculopathy in Patients With Long-Term Transplantation: Longitudinal Evaluation of Its Association With Dyslipidemia Patterns. *Am J Cardiol*. 2025 Mar 1; 238: 47–54. doi: 10.1016/j.amjcard.2024.11.031. PMID: 39613280.
3. *Lund LH, Khush KK, Cherikh WS, Goldfarb S, Kucheryavaya AY, Levvey BJ et al.* The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-fourth Adult Heart Transplantation Report – 2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *J Heart Lung Transplant*. 2017 Oct; 36 (10): 1037–1046. doi: 10.1016/j.healun.2017.07.019. PMID: 28779893.
4. *Khush KK, Cherikh WS, Chambers DC, Harhay MO, Hayes D Jr, Hsich E et al.* The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult heart transplantation report – 2019; focus theme: Donor and recipient size match. *J Heart Lung Transplant.* 2019 Oct; 38 (10): 1056–1066. doi: 10.1016/j.healun.2019.08.004. PMID: 31548031.
5. *Миронков БЛ, Уварова ДД, Колоскова НН, Сапронова ЮВ, Муминов ИИ, Юсова АА и др*. Васкулопатия трансплантата сердца – состояние проблемы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (2): 42–47. *Mironkov BL, Uvarova DD, Koloskova NN, Sapronova YuV, Muminov II, Yusova AA et al*. Cardiac allograft vasculopathy: current review. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (2): 42–47. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2024-2-42-47.
6. *Chih S, Chong AY, Mielniczuk LM, Bhatt DL, Beanlands RS*. Allograft Vasculopathy: The Achilles' Heel of Heart Transplantation. *J Am Coll Cardiol*. 2016 Jul 5; 68 (1): 80–91. doi: 10.1016/j.jacc.2016.04.033. PMID: 27364054.
7. *Velleca A, Shullo MA, Dhital K, Azeka E, Colvin M, DePasquale E et al*. The International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) guidelines for the care of heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2023 May; 42 (5): e1–e141. doi: 10.1016/j.healun.2022.10.015. PMID: 37080658.
8. *Колесников АЮ, Тетерин ГА, Арнт АА, Кочергин НА*. Морфофункциональный подход к диагностике болезни коронарных артерий пересаженного сердца. Клинический случай. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024; 23 (12): 4106. *Kolesnikov AYu, Teterin GA, Arnt AA, Kochergin NA*. Morphofunctional approach in the diagnosis of cardiac allograft vasculopathy: a case report. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024; 23 (12): 4106. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15829/1728-8800-2024-4106.
9. *Tsutsui H, Ziada KM, Schoenhagen P, Iyisoy A, Magyar WA, Crowe TD et al*. Lumen loss in transplant coronary artery disease is a biphasic process involving early intimal thickening and late constrictive remodeling: results from a 5-year serial intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2001 Aug 7; 104 (6): 653–657. doi: 10.1161/hc3101.093867. PMID: 11489770.
10. *Dyrbuś M, Gąsior M, Szyguła-Jurkiewicz B, Przybyłowski P*. The role of optical coherence tomography and other intravascular imaging modalities in cardiac allograft vasculopathy. *Postepy Kardiol Interwencyjnej*. 2020 Mar; 16 (1): 19–29. doi: 10.5114/aic.2020.93909. PMID: 32368233.
11. *Колесников АЮ, Арнт АА, Кочергин НА*. Возможности внутрисосудистых методов визуализации в диагностике васкулопатии трансплантированного сердца. Обзор литературы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (1): 97–102. *Kolesnikov AYu, Arnt AA, Kochergin NA*. Capabilities of intravascular imaging techniques in the diagnosis of cardiac allograft vasculopathy: Literature review. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (1): 97–102. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2024-1-97-102.
12. *Барбараш ЛС, Барбараш ОЛ, Григорьев ЕВ, Шукевич ДЛ, Печерина ТБ, Зинец МГ и др*. Десятилетний опыт ортотопической трансплантации сердца в Кузбассе. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (4): 110–121. *Barbarash LS, Barbarash OL, Grigoriev EV, Shukevich DL, Pecherina TB, Zinets MG et al*. 10-year experience in orthotopic heart transplantation in Kuzbass. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (4): 110–121. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2024-4-110-121.

13. Трансплантация сердца, наличие трансплантированного сердца, отмирание и отторжение трансплантата сердца. Рекомендации МЗ РФ 2023. Heart transplantation, presence of a transplanted heart, heart graft dieoff and rejection. Recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation 2023.
14. *Clemmensen TS, Holm NR, Eiskjær H, Løgstrup BB, Christiansen EH, Dijkstra J et al*. Layered Fibrotic Plaques Are the Predominant Component in Cardiac Allograft Vasculopathy: Systematic Findings and Risk Stratification by OCT. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017 Jul; 10 (7): 773–784. doi: 10.1016/j.jcmg.2016.10.021. PMID: 28330670.
15. *Clemmensen TS, Holm NR, Eiskjær H, Jakobsen L, Berg K, Neghabat O et al*. Detection of early changes in the coronary artery microstructure after heart transplantation: A prospective optical coherence tomography study. *J Heart Lung Transplant.* 2018 Apr; 37 (4): 486–495. doi: 10.1016/j.healun.2017.10.014. PMID: 29128426.
16. *Jensen NM, Clemmensen TS, Bjerre KP, Neghabat O, Mogensen LJH, Holm NR et al*. Cardiac allograft vasculopathy in heart transplanted recipients: The multivessel study. *JHLT Open*. 2023 Dec 6; 3: 100038. doi: 10.1016/j.jhlto.2023.100038. PMID: 40145105.
17. *Rahmani M, Cruz RP, Granville DJ, McManus BM*. Allograft vasculopathy versus atherosclerosis. *Circ Res*. 2006 Oct 13; 99 (8): 801–815. doi: 10.1161/01.RES.0000246086.93555.f3. PMID: 17038650.
18. *Li H, Tanaka K, Anzai H, Oeser B, Lai D, Kobashigawa JA et al*. Influence of pre-existing donor atherosclerosis on the development of cardiac allograft vasculopathy and outcomes in heart transplant recipients. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Jun 20; 47 (12): 2470–2476. doi: 10.1016/j.jacc.2006.01.072. PMID: 16781375.
19. *Watanabe T, Seguchi O, Yanase M, Fujita T, Murata Y, Sato T et al*. Donor-Transmitted Atherosclerosis Associated With Worsening Cardiac Allograft Vasculopathy After Heart Transplantation: Serial Volumetric Intravascular Ultrasound Analysis. *Transplantation.* 2017 Jun; 101 (6): 1310–1319. doi: 10.1097/TP.0000000000001322. PMID: 27472091.

Статья поступила в редакцию 25.08.2025 г.
The article was submitted to the journal on 25.08.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-76-82

ГЕМОЛИЗНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МАЛОГАБАРИТНОГО ОСЕВОГО НАСОСА ДЛЯ ИМПЛАНТАЦИИ ПАЦИЕНТАМ С МАЛЫМИ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ

А.С. Бучнев, А.П. Кулешов, Н.В. Васильев, В.А. Еленкин, Н.В. Грудинин

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

В лаборатории биотехнических систем была проведена оценка травмирующего потенциала разработанного педиатрического имплантируемого осевого насоса. Проведена математическая оценка касательного напряжения, времени экспозиции и индекса гемолиза. Были выявлены зоны, влияющие на травму крови при потоке от 1,5 до 2,5 л/мин. Разработана методика и проведены испытания по определению травмы форменных элементов крови (гемолиз) в условиях гемодинамики педиатрического пациента, перепада давления 85 ± 5 мм рт. ст. и трех значений расхода: 1,5; 2,0; 2,5 л/мин. Работа образца малогабаритного имплантированного осевого насоса в условии обхода левого желудочка сердца учитывает антропометрические параметры пациентов с площадью поверхности тела менее 1,2 м^2. Гемолизные испытания проводились на гидродинамическом стенде, обеспечивающем непрерывную циркуляцию донорской крови. Методика испытаний заключается в оценке уровня свободного гемоглобина плазмы крови, полученного в процессе работы насоса на гидродинамическом стенде. На основании полученных данных рассчитаны гемолитический и модифицированный индексы гемолиза, которые показали положительную динамику работы насоса.

Ключевые слова: гемолиз, осевой насос, гидродинамический стенд, индекс гемолиза.

HEMOLYSIS TESTING OF A SMALL-SIZED AXIAL FLOW PUMP FOR IMPLANTATION IN PATIENTS WITH LOW ANTHROPOMETRIC PARAMETERS

A.S. Buchnev, A.P. Kuleshov, N.V. Vasiliev, V.A. Elenkin, N.V. Grudinin

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

The Biotechnical Systems Laboratory assessed the trauma potential of a newly developed pediatric implantable axial flow pump. A mathematical evaluation was performed to assess shear stress, blood exposure time, and the hemolysis index. Regions contributing to blood trauma were identified at flow rates ranging from 1.5 to 2.5 L/min. A standardized methodology was developed and applied to evaluate blood cell damage (hemolysis) under simulated pediatric hemodynamic conditions, with a pressure gradient of 85 ± 5 mm Hg and three flow rates of 1.5, 2.0, and 2.5 L/min. The operation of the compact implantable axial pump prototype under left ventricular assist conditions was designed to account for the anthropometric characteristics of patients with a body surface area of less than 1.2 m^2. Hemolysis tests were performed using a hydrodynamic test bench that ensures continuous circulation of donor blood. The testing protocol involved measuring the concentration of free hemoglobin in plasma samples collected during pump operation on the test bench. Based on these measurements, hemolysis and modified hemolysis indices were calculated, demonstrating positive performance dynamics of the pump under the tested conditions.

Keywords: hemolysis, axial flow pump, hydrodynamic test bench, hemolysis index.

Для корреспонденции: Бучнев Александр Сергеевич. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (926) 470-09-88. E-mail: labbts@mail.ru

Corresponding author: Alexander Buchnev. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (926) 470-09-88. E-mail: labbts@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Застойная сердечная недостаточность – распространенное клиническое проявление заболевания сердца, как у взрослых, так и у педиатрических пациентов. Медикаментозное лечение малоэффективно при терминальной стадии сердечной недостаточности, трансплантация сердца признана наиболее эффективным методом лечения. Однако из-за нехватки донорских сердец проведение трансплантации сердца сильно ограничено. Особенно это ощутимо в области детской трансплантологии. В результате этот фактор в значительной степени способствует развитию разработки вспомогательных устройств для обхода левого желудочка сердца у детей. Сложность таких устройств обусловлена высокими требованиями к имплантации, надежностью и долговечностью. Чем меньше площадь поверхности тела пациента, тем труднее позиционировать систему в грудной клетке, удовлетворяющую его антропометрическим данным. Одновременно с этим при успешной имплантации и долгосрочной перспективе работы системы возникает проблема роста пациента и более высоких значений гемодинамики, создаваемой насосом. Есть два пути в данном направлении – замена насоса или создание универсального насоса. В первом случае должна быть линейка насосов от педиатрического до взрослого пациента по типу Jarvik [1, 2]. Во втором случае – создание универсального насоса, параметры которого меняются с ростом площади поверхности тела пациента и его гемодинамики. Меняются размеры, рабочая точка насоса, скорость вращения, что выводит насос из зоны низкого травмирующего эффекта в зону повышенной вероятности гемолиза [3–5]. Минимизация проточной части насоса в ходе его разработки и дальнейшей работе может привести к гемолизу, а впоследствии к тромбозу системы, то есть образованию сгустка крови в проточной части компонентов насоса [6–8]. Это может привести к неисправности устройства или его дисфункции. На данный момент нами принято решение создать насос для пациентов с индексом массы тела более 1,4 м^2. Возраст таких пациентов составляет от 10 до 18 лет. Прогнозирование применения разработанного осевого насоса составляет от 4 до 8 лет, в случае если невозможно проведение трансплантации по антропометрическим показателям.

В рамках настоящей работы в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России при поддержке компании ООО «ДОНА-М», Россия, был собран опытный образец, способный обеспечить гемодинамику рассмотренной возрастной группы пациентов. Насос обеспечивает среднее значение давления 80 ± 5 мм рт. ст., которое может быть увеличено при необходимости, а также среднее значение расхода 2,0 ± 0,5 л/мин. Данные параметры являются наиболее оптимальными и эффективными, поэтому задача проектирования малогабаритного насоса сводилась к обеспечению наилучшей гемодинамики в данном диапазоне.

Гемолизные исследования *in vitro* важны при создании устройств вспомогательного кровообращения, поскольку они позволяют оценить биологический ответ при работе насосов в наиболее неблагоприятных клинических условиях. В данной работе показаны испытания на гемолиз малогабаритного осевого насоса для обхода левого желудочка сердца у пациентов с малыми антропометрическими параметрами на гидродинамическом стенде. Исследования проведены в условиях постоянного потока без наложения пульсации, в ходе которых получены значения изменения уровня свободного гемоглобина в плазме (ΔpfHb) при низких значениях потока крови, на основании которых были рассчитаны значения индексов гемолиза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модель насоса

Разрабатываемый нами осевой насос представляет собой миниатюрное имплантируемое устройство непрерывного потока для механической поддержки кровообращения у педиатрических пациентов с сердечной недостаточностью. По наработкам первого этапа, с учетом ранее разрабатываемых конструкций, спроектирован корпус и проточный тракт насоса. Общий вид и вид в разрезе модели осевого насоса представлены на рис. 1.

Условно насос можно разделить на блок проточного тракта и блок электромагнитного привода. Первый блок представлен внутренними компонентами, контактирующими с кровью, которыми являются направляющий аппарат (направитель) или щит, рабочее колесо и спрямляющий аппарат (спрямитель). Рабочее колесо устанавливается в проточную втулку и фиксируется на двух опорах. Опоры являются составными частями щита и спрямителя потока. Второй блок включает корпусные детали, в толще которых располагается электромагнит и кабели электропитания для подключения к системе управления насосом.

Основным элементом осевого насоса является рабочее колесо с лопатками, которое служит источником передачи энергии вращения потоку крови и определяет направление его вращения. Рабочее колесо с двух сторон установлено в опорах – подшипниках, за лопатками рабочего колеса установлен спрямитель потока, представляющий собой стационарный элемент с лопатками, направление которых противоположно направлению вращающегося потока крови,

и таким образом происходит «обратная раскрутка» потока, преобразующая кинетическую энергию вращающего потока в потенциальную энергию давления [9–10]. Статор электродвигателя постоянного тока интегрирован в корпус насоса, а постоянные магниты двигателя вмонтированы в рабочее колесо.

Оценка гемолиза

Перед проведением исследований системы вспомогательного кровообращения *in vivo* и клинической апробации необходимо оценить важнейший параметр повреждения крови, вызываемый насосом – гемолиз. Методика оценки гемолиза основана на международном стандарте U.S. Food and Drag Administration (FDA) 2019 года ASTM F1841-19 [11] и его модифицированном варианте 2025 года ASTM F1841-25 [12]. В стандарте подробно описаны рекомендации проведения исследования гемолиза и рекомендации создания стенда.

Для оценки гемолиза используется измеренный уровень свободного гемоглобина плазмы (pHb). По конечному значению гемоглобина определяется нормализованный индекс гемолиза (NIH – normalized hemolysis index) и модифицированный индекс гемолиза (MIH – modified hemolysis index). NIH рассчитывается по формуле:

$$\text{NIH g / 100 l} = \Delta\text{free Hb} \times V \times \frac{100 - \text{Ht}}{100} \times \frac{100}{Q \times T}, \quad (1)$$

где Δfree Hb – увеличение количества свободного гемоглобина в плазме (г/л); V – объем крови в контуре (л); Q – расход (л/мин); Ht – гематокрит (%); T – интервал времени взятия пробы (мин).

Так как NIH не учитывает концентрацию гемоглобина в крови, которая определяется количеством гемоглобина в эритроцитах, для полной оценки травмы крови используется модифицированный индекс, который учитывает как концентрацию гемоглобина, так и гематокрит:

$$\text{MIH} = \Delta\text{free Hb} \times V \times \frac{100 - \text{Ht}}{100} \times \frac{10^6}{Q \times T \times \text{Hb}}, \quad (2)$$

где Δfree Hb – увеличение количества свободного гемоглобина в плазме (г/л); V – объем крови в контуре (л); Q – расход (л/мин); Ht – гематокрит (%); T – интервал времени взятия пробы (мин); Hb – общая концентрация гемоглобина в крови (мг/л).

В международном стандарте ASTM F1841-19 не определен диапазон или пороговое значение гемолиза для устройств обхода левого желудочка сердца. В 1998 году Y. Nose на основании своих исследований предположил, что если показание NIH насоса остается менее или равным 0,004 г / 100 л при напоре 100 мм рт. ст. в условиях 6-часового стендового исследования и в образце крови после двух дней имплантации насоса, то такой насос остается атравматичным [13]. В той же статье сказано, что оптимальный NIH для двух недель работы вспомогательного кровообращения с применением насоса равен 0,01 г / 100 л и ниже. В документе INTERMACS Adverse Event Definitions 2021 и в рекомендациях ASTM F180-97 (2013 год) сказано, что клинический уровень свободного гемоглобина в плазме крови по истечении первых 72 часов после имплантации в тело органа или устройства, превышающий 20 мг/дл (0,2 г/л), является «незначительным» [14, 15]. При имплантации насоса возникают компенсаторные механизмы, которые направлены на поддержание гомеостаза, и в частности кроветворения, поэтому данный клинический показатель можно условно охарактеризовать как сниженный по отношению к воздействию насоса. Тем не менее стоит стремиться не превышать данный порог уже на стадии стендовых испытаний с кровью.

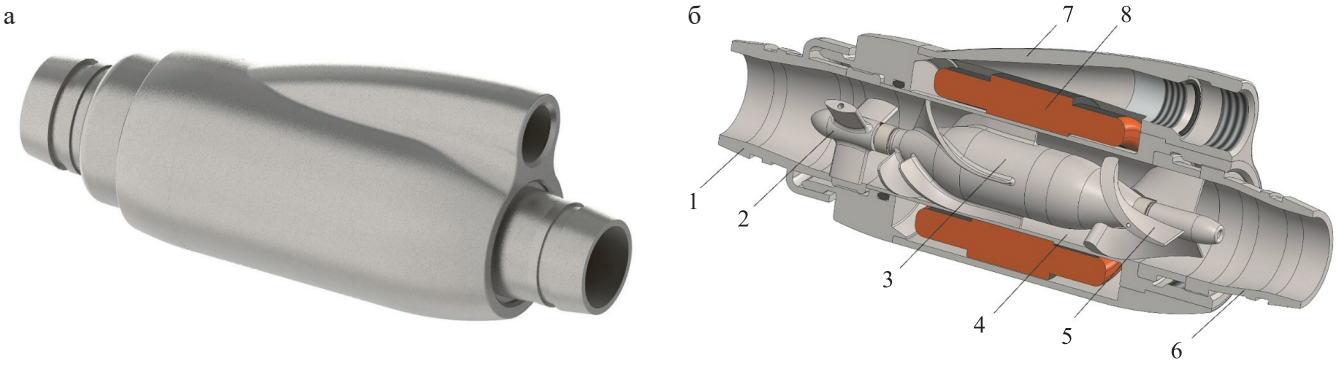


Рис. 1. Модель корпуса осевого насоса (а) и насос в разрезе (б). Составные части насоса: 1 – входная канюля (штуцер); 2 – «щит»; 3 – шнек (рабочее колесо); 4 – втулка проточной части; 5 – спрямитель потока; 6 – выходная канюля (штуцер); 7 – корпус; 8 – электродвигатель

Fig. 1. Axial Pump Model (a) and Cross-Sectional View (б). Pump components: 1 – inlet nozzle (fitting); 2 – «shield»; 3 – impeller; 4 – flow path sleeve; 5 – flow straightener; 6 – outlet nozzle (fitting); 7 – housing; 8 – electric motor

Стенд

В соответствии с международными стандартами ASTM F1841 и анализом литературных данных работы систем вспомогательного кровообращения в условиях обхода левого желудочка сердца нами был разработан и собран контур гемолизных испытаний (рис. 2). Герметичный контур состоит из приточной и отточной трубки Tygon (3/8″ × 3/32″ Saint – Gobain, Франция), винтового сопротивления, магистрали для забора проб крови и испытуемого насоса. В качестве герметичного резервуара использовался мягкий пакет для венозной крови CAPIOX (Terumo) объемом 450 мл. Давление на входе и выходе насоса в контуре измеряли датчиками давления Edwards (Life Sciences). Системный расход измерял ультразвуковой датчик Transonic TS402 (Transonic Systems Inc., USA) установленный на отточной трубке. Измерения давления и расхода контролировались с помощью многоканального модуля Ангиотон (Биософт-М, Россия) и визуализировались на ПК программой Pumpax (Биософт-М, Россия). Значения заданной частоты вращения ротора насоса определялись путем изменения давления на входе и выходе насоса при определенном расходе.

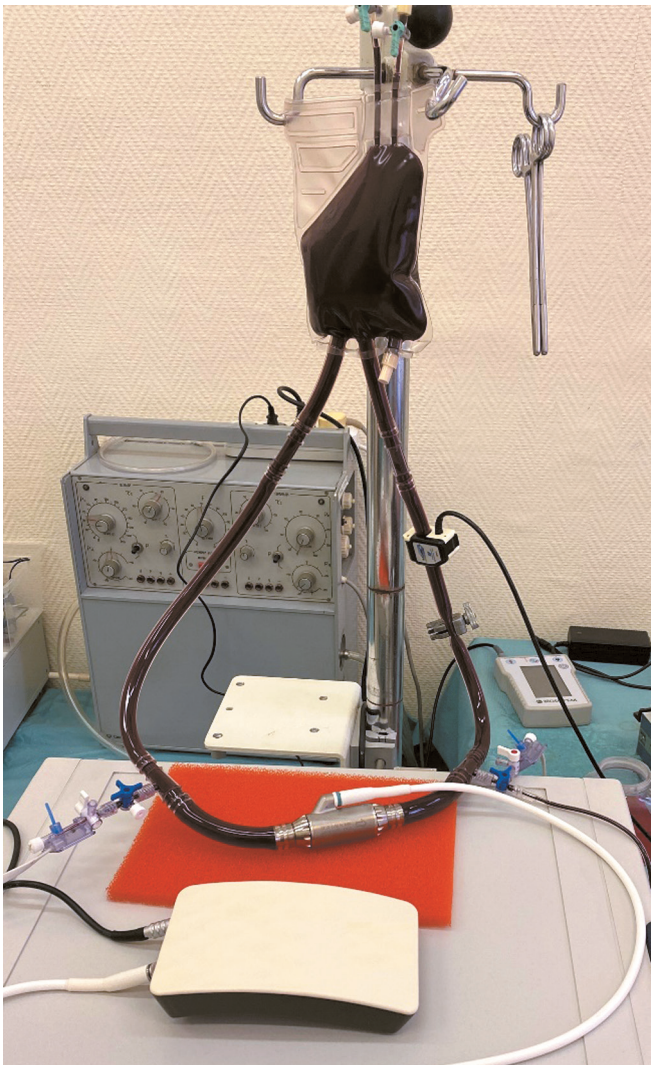


Рис. 2. Стенд для испытаний на гемолиз

Fig. 2. Mock hemolysis test loop

Забор крови у донора производится в день проведения испытания. Для забора крови использовался одноразовый стерильный резервуар из ПВХ-материалов объемом 500 мл, предварительно заполненный 50 мл цитратно-фосфатно-декстрозно-аденинового раствора (CPDA-1) для консервации крови. Перед экспериментом контур заполняли стерильным физиологическим раствором. Затем в течение 10 минут запускали насос с минимальными оборотами ротора. После смачивания поверхностей контура физиологический раствор сливали, затем заполняли донорской кровью с добавлением 2500 МЕ гепарина в качестве антикоагулянта, при этом воздух из контура был полностью удален, чтобы предотвратить усиление гемолиза из-за остаточных пузырьков, которые могли повлиять на точность измерения давления и расхода. Перед началом эксперимента (5 мин) из контура берется проба крови для контроля значения показателей: гемоглобина (Hb), гематокрита (Ht) и уровня свободного гемоглобина в плазме (pHb).

Ввиду отсутствия четкой рекомендации по параметрам циркуляции крови стандартная методика для взрослого пациента с параметрами перепада давления 100 мм рт. ст. и расхода 5 л/мин заменена на клинически значимые параметры использования насоса в области педиатрии. Расход крови в насосе составлял 1,5; 2; 2,5 л/мин, а давление – 85 ± 5 мм рт. ст., что обеспечивает охват широкой целевой группы пациентов.

Эксперимент длился 6 часов. Для большей точности забор крови из контура осуществлялся каждые 30 мин вместо часового рекомендуемого интервала. С помощью лабораторной центрифуги ОПН8 из пробы получена плазма, и на спектрофотометре (HemoCue Plasma Low/Hb, Швеция) оценивалось значение pHb с точностью 0,1 г/л. Каждая проба крови исследовалась три раза, для соблюдения повторяемости. В случае получения отличающихся значений, например 0,1 и 0,2, проводилась четвертая проверка и результат усреднялся, а погрешности индексов считались по среднеквадратическому отклонению на основании смещенной оценки дисперсии свободного гемолиза:

$$S = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}. \qquad (3)$$

По требованиям методики ASTM F1841 насос должен быть испытан одновременно с клинически применимым устройством, значение которого пойдет в качестве эталонного. В данном исследовании насосом сравнения является опытный образец насоса левого желудочка, входящего в состав медицинского

изделия «Комплекс универсальный для механической поддержки насосной функции левого и правого желудочков сердца – «СТРИМ КАРДИО». Исследования были проведены 5 раз на каждом исследуемом режиме насоса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пример графика изменения гемоглобина одного из экспериментов разработанного насоса показан на рис. 3. Наблюдается стабильное линейное увеличение значений свободного гемоглобина до уровня 0,25 г/л, что обуславливает механическое воздействие насоса на форменные элементы крови.

Рис. 3 характеризует один из пяти экспериментов по оценке свободного гемоглобина. За базовое значение травмообразования разработанного насоса мы взяли усредненное значение для каждого временного интервала пяти экспериментов. Результаты в графическом виде представлены на рис. 4. Соответствующим цветом выделены графики при разном расходе

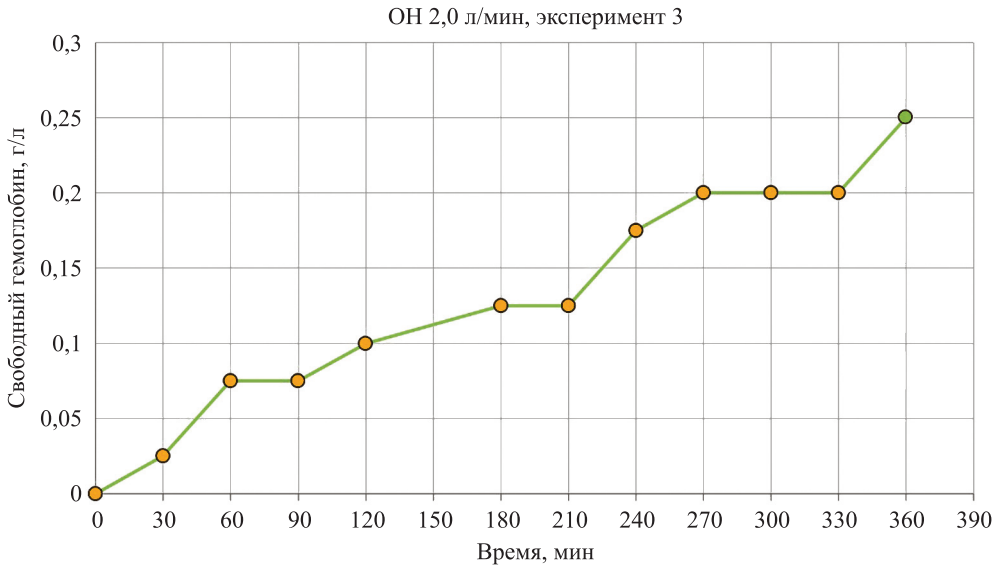


Рис. 3. Результаты отдельного эксперимента по регистрации свободного гемоглобина в условиях давления 85 мм рт. ст. и расхода 2,0 л/мин

Fig. 3. Results of a single experiment measuring free hemoglobin at a pressure of 85 mm Hg and a flow rate of 2.0 L/min

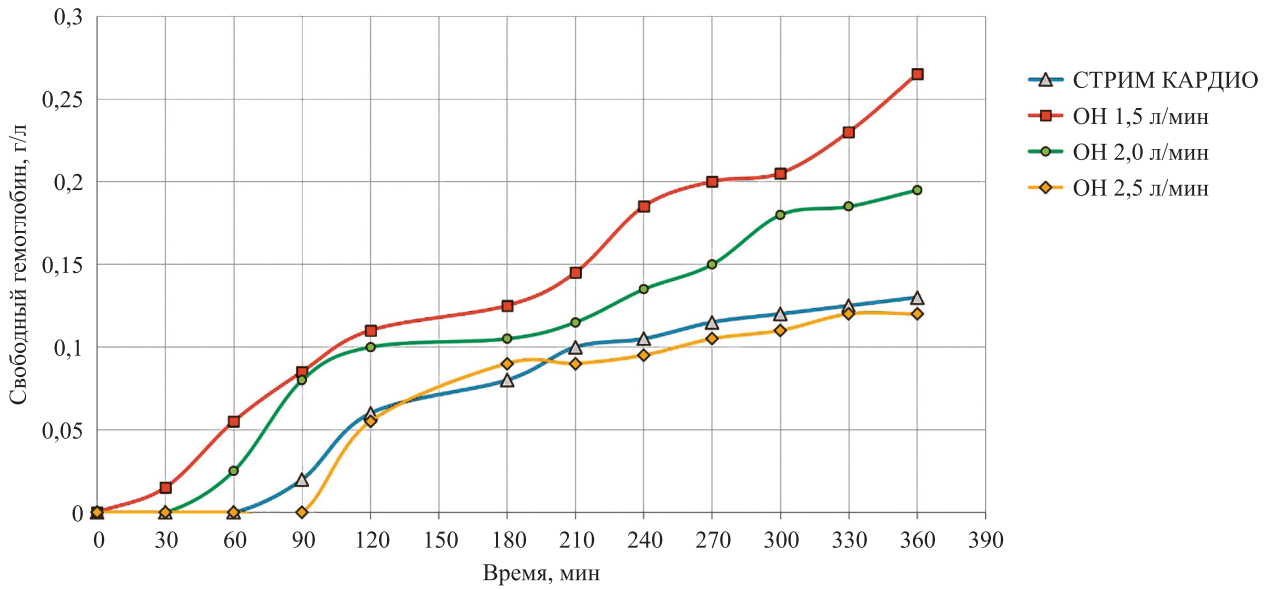


Рис. 4. Усредненные значения свободного гемоглобина в условиях давления 85 мм рт. ст. для разных значений расхода в сравнении со значениями эталонного насоса «СТРИМ КАРДИО» (3 л/мин)

Fig. 4. Mean free hemoglobin levels at a pressure of 85 mm Hg at different flow rates, compared with the reference pump «StreamCardio» (3 L/min)

Таблица

Экспериментальные значения и расчетные параметры гемолиза разработанного насоса и насоса «СТРИМ КАРДИО» (3 л/мин)

Experimental values and calculated hemolysis parameters of the developed pump and the StreamCardio pump (3 L/min)

Время, мин	Расход, л/мин	Скорость ротора, об/мин	Средний уровень гемоглобина (n = 5), г/л	Средний уровень свободного гемоглобина (n = 5), г/л	NIH, г/100 л	MIH
360	1,5	8200	152	0,265 ± 0,035	0,013912 ± 0,00035	0,9275 ± 0,023
360	2,0	8400	146	0,195 ± 0,025	0,007678 ± 0,00044	0,5118 ± 0,030
360	2,5	8500	148	0,120 ± 0,012	0,003780 ± 0,00021	0,2526 ± 0,014
360	3,0	7500	152	0,130 ± 0,010	0,003413 ± 0,00035	0,2275 ± 0,012

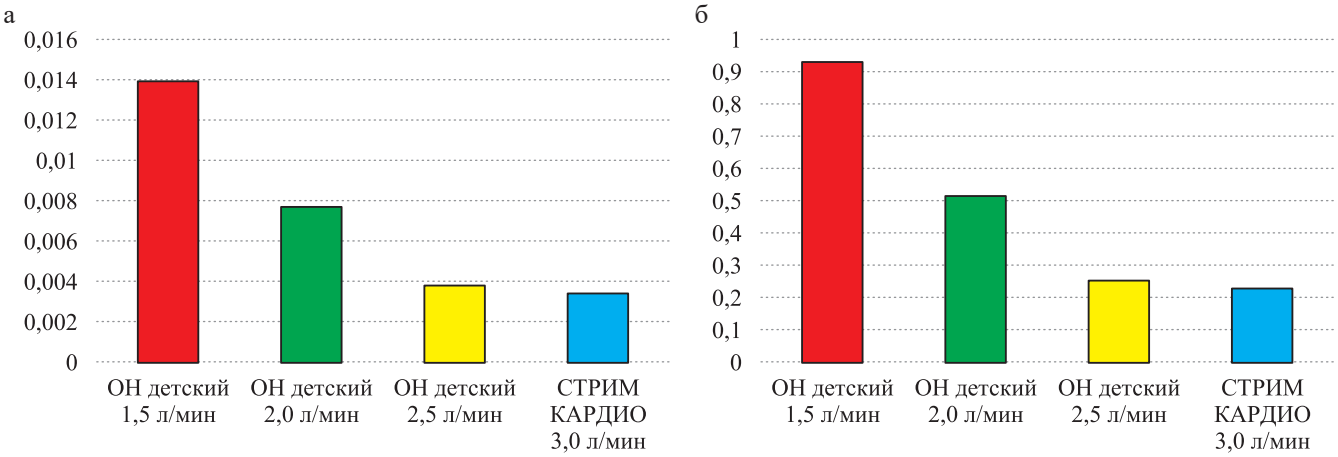


Рис. 5. Абсолютные значения средних индексов гемолиза NIH (а) и MIH (б)

Fig. 5. Absolute values of the average hemolysis indices NIH (a) and MIH (б)

и отдельно синим цветом показан нижний граничный предел режима расхода насоса «СТРИМ КАРДИО» 3 л/мин при перепаде давления 85 мм рт. ст.

Далее по формулам 1 и 2 были рассчитаны индексы гемолиза и записаны в таблицу. Из таблицы можно увидеть, что скорость разработанного насоса незначительно увеличивалась в процессе перехода от минимального расхода к максимальному. В образцах донорской крови был различный уровень гемоглобина, поэтому он также был усреднен при проведении серии экспериментов. При этом среднее значение было выдержано на уровне 150 ± 4 г/л. Стоит отметить, что стандарты определения уровня свободного гемоглобина плазмы (pHb) крови не дают четкого референсного значения.

Полученный уровень свободного гемоглобина был усреднен и записан в таблицу. По конечному пулу проб в конкретном эксперименте было оценено среднеквадратичное отклонение уровня гемоглобина. Далее по формуле 3 было посчитано среднее отклонение по пяти экспериментам. В конечном итоге погрешность измерения свободного гемоглобина учитывалась в формуле 1 и 2. Например, среднее отклонение по измерениям одного эксперимента 0,05, а пул значений по пяти экспериментам (0,05; 0; 0,05; 0,025; 0,5), ввиду чего получим отклонение свободного гемоглобина по эксперименту 0,2 г/л. Это дает погрешность ΔNIH = 0,00035, а ΔMIH = 0,023. MIH был рассчитан с учетом полученного среднего гемоглобина образцов крови как среднее арифметическое между экспериментальными измерениями. Сравнительные данные результатов расчета индексов показаны на рис. 5.

ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальные исследования проведены по стандарту исследования гемолиза. Стоит отметить, что стандарты определения уровня гемоглобина не дают четкого референтного значения, относительно которого можно судить о качестве медизделия для вспомогательных систем обхода левого желудочка сердца и ЭКМО. С другой стороны, должен существовать некоторый ориентир границ для стендовых исследований, относительно которого можно сделать вывод о благоприятном воздействии на кровь насосом или требуемой доработке. Как уже было сказано, существует исследование Y. Noze [11], в котором автор оценивает уровень NIH менее 0,004

как атравматичный. Достаточно трудно предположить, как поведет себя устройство в крови конкретного пациента, особенно при увеличении гематокрита, и какой уровень разрушения эритроцитов организм может скомпенсировать без осложнений. Документы [12, 13] сообщают о границе гемолиза в 20 мг/дм (0,2 г/л) в течение 72 часов после имплантации изделий подобной терапевтической направленности. Ввиду этого можно принять данные значения как базовые ориентиры для стендовых исследований систем обхода левого желудочка сердца.

Общую оценку испытуемого насоса надлежит провести в сравнении с клинически одобренными и применяемыми системами механической поддержки кровообращения. В данном исследовании в роли эталона выступает система «СТРИМ КАРДИО». Параметры гемодинамики по стандартам разрешается выбрать в клинически значимых диапазонах. Мы провели исследования при среднем артериальном давлении для педиатрической группы пациентов с индексом массы тела более 1,4 м^2. По полученным данным свободного гемоглобина в донорской крови можно сделать вывод о соответствии использования разработанного педиатрического насоса на режиме давления 85 ± 5 мм рт. ст. и расхода 2,5 л/мин. Режим расхода 2,0 л/мин является пограничным, а режим 1,5 л/мин скорее нежелательным. Значения индексов NIH и MIH также подтверждают целесообразность данных выводов. Полученные результаты данного исследования основаны на измерении большого числа проб крови, что привело к более точной оценке разработанного насоса. Коэффициенты индексов гемолиза рассчитаны максимально точно с применением математического поиска погрешностей. Погрешность результатов составила 10–13%.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Baldwin JT, Adachi I, Teal J, Almond CA, Jaquiss RD, Massicotte MP et al*. Closing in on the PumpKIN Trial of the Jarvik 2015 Ventricular Assist Device. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu*. 2017 Jan; 20: 9–15.
2. *Kilic A, Nolan TD, Li T, Yankey GK, Prastein DJ, Cheng G et al*. Early *in vivo* experience with the pediatric Jarvik 2000 heart. *ASAIO J*. 2007 May-Jun; 53 (3): 374–378.
3. *Roberts N, Chandrasekaran U, Das S, Qi Z, Corbett S*. Hemolysis associated with Impella heart pump positioning: In vitro hemolysis testing and computational fluid dynamics modeling. *Int J Artif Organs*. 2020 Mar 4: 391398820909843.
4. *Sobieski MA, Giridharan GA, Ising M, Koenig SC, Slaughter MS*. Blood trauma testing of CentriMag and RotaFlow centrifugal flow devices: a pilot study. *Artif Organs*. 2012 Aug; 36 (8): 677–682.
5. *Nikfar M, Razizadeh M, Zhang J, Paul R, Wu ZJ, Liu Y*. Prediction of mechanical hemolysis in medical devices via a Lagrangian strain-based multiscale model. *Artif Organs*. 2020 Aug; 44 (8): E348–E368.
6. *Rowlands GW, Pagani FD, Antaki JF*. Classification of the Frequency, Severity, and Propagation of Thrombi in the HeartMate II Left Ventricular Assist Device. *ASAIO J*. 2020 Sep/Oct; 66 (9): 992–999.
7. *Dai WF, Wu P, Liu GM*. A two-phase flow approach for modeling blood stasis and estimating the thrombosis potential of a ventricular assist device. *Int J Artif Organs*. 2021 Jul; 44 (7): 471–480.
8. *Dang G, Epperla N, Muppidi V, Sahr N, Pan A, Simpson P, Baumann Kreuziger L.* Medical Management of Pump Related Thrombosis in Patients with Continuous Flow Left Ventricular Assist Devices: A Systematic Review and Meta-analysis. *ASAIO J*. 2017 Jul/Aug; 63 (4): 373–385.
9. *Бучнев АС, Кулешов АП, Дробышев АА, Еленкин ВА, Шевченко ГА, Грудинин НВ*. Стендовые исследования малогабаритного осевого насоса для имплантации пациентам с малыми антропометрическими показателями. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (2): 81–88. *Buchnev AS, Kuleshov AP, Drobyshev AA, Elenkin VA, Shevchenko GA, Grudinin NV*. Bench studies of a small axial pump for implantation in patients with low anthropometry. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (2): 81–88. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-2-81-88.
10. *Иткин ГП, Шемакин СЮ, Шохина ЕГ, Бурцев ВИ, Аврамов ПВ, Волкова ЕА и др*. Результаты экспериментальных исследований на телятах первого отечественного имплантируемого осевого насоса. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2013; 15 (3): 49–58. *Itkin GP, Shemakin SJ, Shokhina EG, Burcev VI, Avramov PV, Volkova EA et al*. The first domestic implantable axial flow pump: results of experimental studies in calves. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2013; 15 (3): 49–58. (In Russ.). https://doi.org/10.15825/1995-1191-2013-3-49-58.
11. ASTM F1841-97. Standard Practice for Selection of Blood for In Vitro Evaluation of Blood Pumps. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, 2017.
12. ASTM F1841-25. Standard Practice for Selection of Blood for In Vitro Evaluation of Blood Pumps. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, 2025.
13. *Nosé Y.* Design and development strategy for the rotary blood pump. *Artif Organs*. 1998 Jun; 22 (6): 438–446.
14. INTERMACS Adverse Event Definitions, Appendix A: Adverse Event Definitions Version 2021.
15. ASTM F1840-97. Standard Practice for Selection of Blood for In Vitro Evaluation of Blood Pumps. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials, 2013.

Статья поступила в редакцию 16.12.2025 г.
The article was submitted to the journal on 16.12.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-83-93

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ НАНОСТРУКТУРЫ МИОЦИТОВ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ НАНОТОМОГРАФИИ

А.Е. Ефимов[1], Т.К. Миленин[2], Е.И. Подболотова[1], Н.В. Грудинин[1], О.И. Агапова[1], И.И. Агапов[1]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)», Москва, Российская Федерация

Цель: провести статистический анализ угловых ориентаций гексагональных решеток миофиламентов в миофибриллах скелетных мышц крысы с использованием технологии сканирующей зондовой нанотомографии. **Материалы и методы.** Для исследования были получены образцы скелетных мышечных тканей здоровых крыс породы Wistar. Препараты мышечных волокон поясничной мышцы крысы были залиты в эпоксидную смолу. Исследование поверхности образцов после среза ультрамикротомом производилось методом сканирующей зондовой нанотомографии. Анализ изображений срезов саркомеров позволяет определить ориентации гексагональных решеток миозиновых миофиламентов. **Результаты.** Разработана методика вычисления угловых ориентаций гексагональных решеток по муаровым структурам на изображениях срезов саркомеров. Статистический анализ полученных изображений показал, что относительные повороты гексагональных решеток не подчиняются нормальному распределению по тесту Колмогорова–Смирнова ($p = 0,3$) и решетки меняют свою ориентацию вдоль миофибрилл случайным образом. **Заключение.** Анализ ориентаций решеток в смежных саркомерах позволил впервые в научной практике получить и статистически проанализировать данные об их взаимных ориентациях на протяжении миофибрилл. По результатам расчетов выявлена низкая степень согласованности ориентаций миозиновых решеток вдоль миофибрилл в скелетных мышцах крысы. Разработанные подходы и алгоритмы могут в дальнейшем быть применены для исследований особенностей наноструктурной организации миоцитов и кардиомиоцитов различных видов.

Ключевые слова: миоциты, миофибриллы, саркомеры, сканирующая зондовая микроскопия, нанотомография.

NANOSTRUCTURAL ORGANIZATION OF SKELETAL MUSCLE MYOCYTES REVEALED BY SCANNING PROBE NANOTOMOGRAPHY

A.E. Efimov[1], T.K. Milenin[2], E.I. Podbolotova[1], N.V. Grudinin[1], O.I. Agapova[1], I.I. Agapov[1]

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

Objective: to perform a statistical analysis of the angular orientations of hexagonal myofilament lattices in rat skeletal muscle myofibrils using scanning probe nanotomography (SPN). **Materials and methods.** Skeletal muscle tissue samples were obtained from healthy Wistar rats for the study. Specimens of rat lumbar skeletal muscle fibers were embedded in epoxy resin. After sectioning with an ultramicrotome, the specimen surfaces were examined using SPN. Analysis of the resulting images of sarcomere cross-sections enabled the determination

Для корреспонденции: Агапов Игорь Иванович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.
Тел. (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

Corresponding author: Igor Agapov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation.
Phone: (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

of the angular orientations of the hexagonal lattices formed by myosin myofilaments. **Results.** A method was developed to calculate the angular orientations of hexagonal lattices based on moiré patterns observed in images of sarcomere cross-sections. Statistical analysis of the obtained images showed that the relative rotations of the hexagonal lattices do not follow a normal distribution according to the Kolmogorov–Smirnov test ($p = 0.3$). The results indicate that the orientations of the lattices vary randomly along the myofibrils. **Conclusion.** Analysis of lattice orientations in adjacent sarcomeres made it possible, for the first time, to obtain and statistically evaluate data on their mutual orientations along myofibrils. The results revealed a low degree of alignment in the orientations of myosin filaments within myofibrils of rat skeletal muscle. The proposed methods and algorithms may be further applied to studies of the nanostructural organization of myocytes and cardiomyocytes in different species.

Keywords: myocytes, myofibrils, sarcomeres, scanning probe microscopy, nanotomography.

ВВЕДЕНИЕ

Структурные особенности и функциональные молекулярные механизмы сократительных клеток поперечно-полосатой мышечной ткани активно изучаются с середины XIX века. Развитие методов микроскопии в 1950 гг. позволило сделать ряд ключевых открытий в этой области и сформулировать модель «скользящих филаментов», согласно которой сокращение миофибрилл происходит за счет скольжения актиновых миофиламентов вдоль миофиламентов миозина в каждом сегменте миофибриллы (саркомере), которые разделены между собой Z-дисками.

Миозиновые и актиновые филаменты в саркомере формируют трехмерную гексагональную решетку, в которой каждый миозиновый филамент окружен 6 актиновыми филаментами [1]. У позвоночных на каждом миозиновом волокне формируются «короны» из трех головок миозина, расположенных под углом 120° друг к другу в плоскости, перпендикулярной волокну. Расстояние между соседними коронами составляет 14,3 нм, причем каждая следующая корона повернута на 40° относительно предыдущей. Таким образом, ориентация головок миозина полностью повторяется с периодом 42,9 нм [2]. Головки миозина связаны с волокном шарнирными участками, которые могут изменять свою пространственную ориентацию при взаимодействии с актином.

В состав актиновых филаментов кроме актина входят также белки тропонин и тропомиозин. Молекулы актина имеют глобулярное строение и, соединяясь вместе, образуют длинные нити. В актиновых филаментах в саркомерах две длинные актиновые нити образуют двойную спираль с полупериодом 35,75 нм в состоянии покоя. В промежутках между цепями актина находятся молекулы тропомиозина, к которым на равных расстояниях друг от друга прикрепляются молекулы тропонина. Тропониновый комплекс состоит из трех глобулярных субъединиц: тропонин Т, тропонин С и тропонин I. Тропонин Т осуществляет прикрепление тропонинового комплекса к тропомиозину. Тропонин С связывается с ионами кальция. Тропонин I препятствует взаимодействию миозиновых головок с актином. В состоянии покоя тропомиозин и тропонины блокируют молекулы актина таким образом, что он не может взаимодействовать с миозином [3].

При повышении концентрации ионов Ca^{2+} в области миофиламентов включается взаимодействие актиновых и миозиновых филаментов. Субъединица тропонина С актинового миофиламента, связываясь с ионом Ca^{2+}, подвергается пространственной конформации, что меняет форму тропонинового комплекса. Это приводит к перестройке пространственной конфигурации тропомиозина таким образом, что миозиносвязывающие участки нитей актина становятся доступны для взаимодействия с головками миозина. Головки миозина обладают АТФ-азной активностью, это значит, что при расщеплении молекул АТФ головки могут менять свою конформацию, причем конформационные изменения головки способны вызывать движения в ее шарнирной части, и если головка миозина связана с молекулой актина, то движение головки вызывает движение актинового миофиламента вдоль нити миозина [4].

Многочисленные исследования структуры и молекулярного механизма саркомеров при помощи методов электронной и флуоресцентной микроскопии, рентгеновской дифракции и молекулярной биохимии полностью подтвердили данную модель, а также позволили охарактеризовать роль ряда других структурных белков (α-актинин, титин, небулин, миозинсвязывающий белок С (MyBP-C) и др.) в миофибриллах мышечных клеток и влияние структурных и молекулярных изменений в саркомерах на развитие патологических состояний мышечной ткани, в частности кардиомиопатий различной природы [5–8].

Исследования трехмерной наноструктуры миоцитов при помощи таких современных методов, как рентгеновская нанотомография [9] и сканирующая электронная микроскопия с фокусированным ионным пучком (ФИП/СЭМ) [10], позволили изучить трехмерную организацию и взаимодействие миофибрилл и систем Т-трубочек [11], саркоплазматического ретикулума и митохондрий. В работе [12] технологии трехмерной реконструкции на основе ФИП/СЭМ позволили выявить взаимосвязанность систем митохондрий в мышечных клетках. Подобные исследования демонстрируют мощные возможности

методов 3D-наноимиджинга в раскрытии трехмерных структурных взаимодействий между различными клеточными органеллами и компартментами [13], которые сложно проанализировать с помощью традиционной 2D-электронной микроскопии, ограниченной плоским представлением трехмерной клеточной структуры.

Использование технологии электронной томографии позволило реконструировать трехмерную структуру Z-дисков, соединяющих смежные саркомеры [14–16], охарактеризовать перестройку решеток Z-дисков при сокращении кардиомиоцитов [17], а также восстановить трехмерную молекулярную структуру миозиновых миофиламентов [18, 19]. В работе [20] метод *in situ* криоэлектронной томографии позволил напрямую охарактеризовать взаимодействие решеток актиновых и миозиновых миофиламентов при сокращении неонатальных кардиомиоцитов крысы.

Применение метода рентгеновской микродифракции позволяет изучать степень интегральной упорядоченности ориентаций гексагональных решеток в саркомерах на протяжении миофибриллы. Исследования [21, 22] показывают, что, например, миофибриллы асинхронных летательных мышц ряда насекомых (*Heteroptera*, *Thysanoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera* и *Diptera*) имеют высокую степень согласованности ориентаций гексагональных решеток в саркомерах, в то время как для некоторых других видов наблюдается меньшая степень согласованности (*Copera annulata* и *Neogurelca himachala*) или полное отсутствие согласованности ориентаций (*Ctenoplusia albostriata*). При этом показано, что небольшие различия в наноструктурной организации решеток миофиламентов могут соответствовать различной функциональности мышц одного и того же организма [23]. Имеющиеся данные по млекопитающим ограничены и свидетельствуют о наличии некоторой степени согласованности в скелетных мышцах (поясничная мышца кролика) [22]. Однако данные микродифракционных исследований являются интегральными и не могут дать информации об изменениях взаимной ориентации смежных саркомеров на протяжении миофибриллы, а также не отвечают на вопрос об ультраструктурной обусловленности данных изменений. Систематический анализ подобных изменений ориентации решеток миофиламентов на наноструктурном уровне в литературе отсутствует. При этом новейшие исследования наноструктуры кардиомиоцитов млекопитающих в норме и при сердечной недостаточности при помощи методов малоугловой рентгеновской дифракции указывают на то, что изменения ориентаций индивидуальных миофибрилл и миофиламентов могут рассматриваться и в качестве возможных маркеров сердечных патологий [24].

Задача данной работы – изучить важные особенности наномасштабной организации миофиламентов в миоцитах, остающиеся не исследованными систематически на сегодняшний день, выявить особенности и закономерности изменений взаимной ориентации решеток миозиновых волокон в смежных саркомерах на протяжении миофибрилл. Для решения данной задачи мы использовали технологию сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ), которая дает возможность исследовать наноструктуру решеток миофиламентов в миофибриллах клеток мышечной ткани после среза ультрамикротомом. Следует подчеркнуть, что работа носит характер фундаментального исследования наноструктуры миоцитов скелетной мышечной ткани и посвящена в первую очередь разработке алгоритма анализа получаемых данных с использованием этой биологической модели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка образцов мышечной ткани крысы для исследований методами сканирующей зондовой нанотомографии

Мышечные волокна поясничной мышцы были получены от самцов крыс породы Wistar возрастом 1 год (вес особи 250–350 г). Операции с животными осуществлялись под ингаляционным наркозом с применением препарата «Изофлуран» в концентрации 5% по объему. Животные в процессе операции находились на спонтанном дыхании с частотой 75 ± 10 дыхательных циклов в минуту, что соответствовало хирургической стадии наркоза. Затем проводилась эвтаназия животных с применением препарата «Золетил 100» в дозировке 20 мг. Всего в работе было использовано 7 животных. Исследование выполнено в соответствии с принципами, установленными Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, и одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (Заключение № 231221-1/1д от 23 декабря 2021 г.).

Для получения образцов скелетной мышечной ткани выполнялся разрез скальпелем и забор фрагмента поясничной мышцы (*m. psoas*), полученный образец помещался в кардиоплегический раствор кустодиола (состав на 1000 мл: L-гистидин 27,9289 г, маннитол 5,4651 г, L-гистидина гидрохлорид моногидрат 3,7733 г, натрия хлорид 0,8766 г, магния хлорида гексагидрат 0,8132 г, калия хлорид 0,671 г, L-триптофан 0,4085 г, калия кетоглутарат 0,1842 г, кальция хлорида дигидрат 0,0022 г) при температуре 4 °C, выполнялась отмывка от крови данным раствором. Затем мышцы рассекались на полоски мышечных волокон, в также в кустодиоле зажимались в растянутом состоянии на металлических пластинах

при помощи хирургических зажимов и также в зажимах мышечные волокна фиксировались при помощи 2% раствора глютаральдегида в фосфатном буфере в течение 1 ч при температуре 4 °С.

Далее образцы мышечных волокон были дегидратированы методом проводки по спиртам с увеличивающейся концентрацией по схеме:

а) раствор этанола 30% – 10 мин;
б) раствор этанола 50% – 10 мин;
в) раствор этанола 70% – 10 мин;
г) раствор этанола 80% – 10 мин;
д) раствор этанола 96% – 10 мин.

Заливка образцов производилась в акрилатной среде Lowicryl HM20 (Polysciences, Cat. № 15924-1). После дегидратации выполнялось инкубирование образца в смеси Lowicryl : этиловый спирт 95% (1 : 1) в течение 60 мин и в смеси Lowicryl : этиловый спирт 95% (2 : 1) в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем образцы в небольшом количестве среды помещали в вакуумный эксикатор на 30 минут с последующим постепенным сбросом давления для удаления остатков этилового спирта. После удаления спирта образцы погружали в заливочную среду и помещали под УФ-лампу 366 нм для полимеризации акрилатной среды в течение 48 часов.

Получение сверхтонких срезов и сканирующая зондовая микроскопия

После полимеризации образцов были выполнены сверхтонкие срезы образцов при помощи ультрамикротома Leica UC6 (Leica Microsystems GmbH, Австрия) с использованием алмазного ножа Diatome UltraAFM (Diatome Ltd., Швейцария) с шириной кромки 2,0 мм и углом схождения граней 35°, оптимизированного производителем для подготовки поверхностей для измерений методами сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ). Срезы толщиной 100 нм выполнялись под заданным углом 15° к направлению мышечных волокон.

Были выполнены СЗМ-измерения поверхностей блоков образцов после срезов, в полуконтактном режиме с использованием кремниевых зондов NSG10 (Tipsnano, Эстония) с резонансной частотой 240 кГц и радиусом кривизны острия зонда менее 10 нм. Для измерений были использованы сканирующий зондовый микроскоп Solver P47 (НТ-МДТ, Россия) и приборный комплекс для сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ) Ntegra Tomo (НТ-МДТ, Россия).

Сделанный алмазным ножом срез препарата не является идеально гладким, на поверхности образца после среза детектируется соответствующий молекулярным структурам мышечного волокна наномасштабный рельеф, возникающий за счет релаксации внутренних напряжений и неоднородностей залитого образца [25], поэтому режим сканирования топографии среза является информативным. Управление микроскопом и получение изображений сканов осуществлялось при помощи программы Nova (НТ-МДТ, Россия). После окончания сканирования одного участка для сканирования другого участка зонд сдвигался вдоль срезов миофибрилл с наложением краев участков друг на друга для возможности совмещения сканов в одно изображение.

Математическая обработка результатов

На рис. 1, а, изображена модель идеальной гексагональной решетки саркомера, состоящей из миозиновых филаментов в виде вытянутых в одном направлении цилиндров. Одна из возможных плоскостей среза гексагональной решетки выделена желтым цветом. В данном случае она совпадает с плоскостью решетки, определяемой как плоскость, параллельная горизонтальным рядам филаментов гексагональной решетки. Оси среза X и Y лежат на плоскости среза. Ось Y направлена перпендикулярно филаментам, а ось X – перпендикулярно оси Y.

На рис. 1, б, гексагональная решетка повернута относительно плоскости среза. Плоскость решетки выделена зеленым. Угол между плоскостью решетки и осью Y, обозначенный, как α, определяет ориентацию гексагональной решетки. Этот угол можно определить по муаровому узору, возникающему на изображении среза гексагональной решетки. Угол α не зависит от наклона решетки относительно плоскости среза, определяемого как поворот плоскости решетки вокруг оси Y. Для решения поставленной задачи нами был разработан специализированный

а б

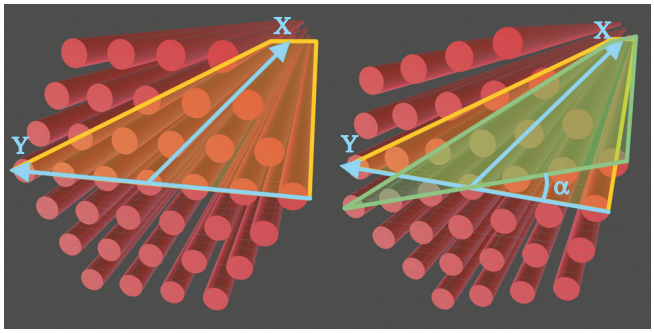


Рис. 1. Модель гексагональной решетки: а – желтым выделена одна из возможных плоскостей среза, совпадающая с плоскостью решетки, голубым выделены оси среза; б – определение угла поворота α, плоскость решетки, повернутая относительно плоскости среза, обозначена зеленым

Fig. 1. Model of a hexagonal lattice: a – one of the possible cross-sectional planes coinciding with the lattice plane is highlighted in yellow, the axes of the cross-sectional plane are highlighted in blue; б – determination of the rotation angle α, the lattice plane rotated relative to the cross-sectional plane is shown in green

алгоритм определения угла α для каждого отдельного саркомера на основе данных СЗНТ.

Получаемые СЗМ-изображения срезов мышечных волокон совмещались в одно изображение в графическом редакторе. По срезам саркомеров на получившемся изображении для каждого саркомера определялся угол α – ориентация гексагональной решетки саркомера относительно плоскости среза. Для определения угла α использовалась полученная нами формула $tg(\alpha) = tg(\beta)tg(\gamma)$. Здесь β – угол наклона оси гексагональной решетки относительно плоскости среза, равный в нашей работе 15°, а γ – угол наклона муаровых полос на срезе саркомера относительно прямой, перпендикулярной оси миофибриллы и параллельной Z-диску анализируемого саркомера, принимаемой нами за ось Y. Угол γ измерялся либо напрямую, либо при помощи двухмерного преобразования Фурье, примененного к муаровым полосам соответствующего саркомера. При прямом измерении углов γ на скане среза каждого анализируемого саркомера проводилась прямая, параллельная муаровым полосам среза гексагональной решетки, и измерялся угол γ, образованный этой прямой с осью Y.

Метод преобразования Фурье использовался в случае, когда прямое измерение угла γ наклона муаровых полос саркомера было затруднено из-за нечеткости скана муарового узора. На скане среза препарата выделялись прямоугольные фрагменты, каждый из которых содержал муаровый узор среза одного саркомера (рис. 2, а). Затем производилось двухмерное преобразование Фурье каждого из этих фрагментов (рис. 2, б). Максимум преобразования

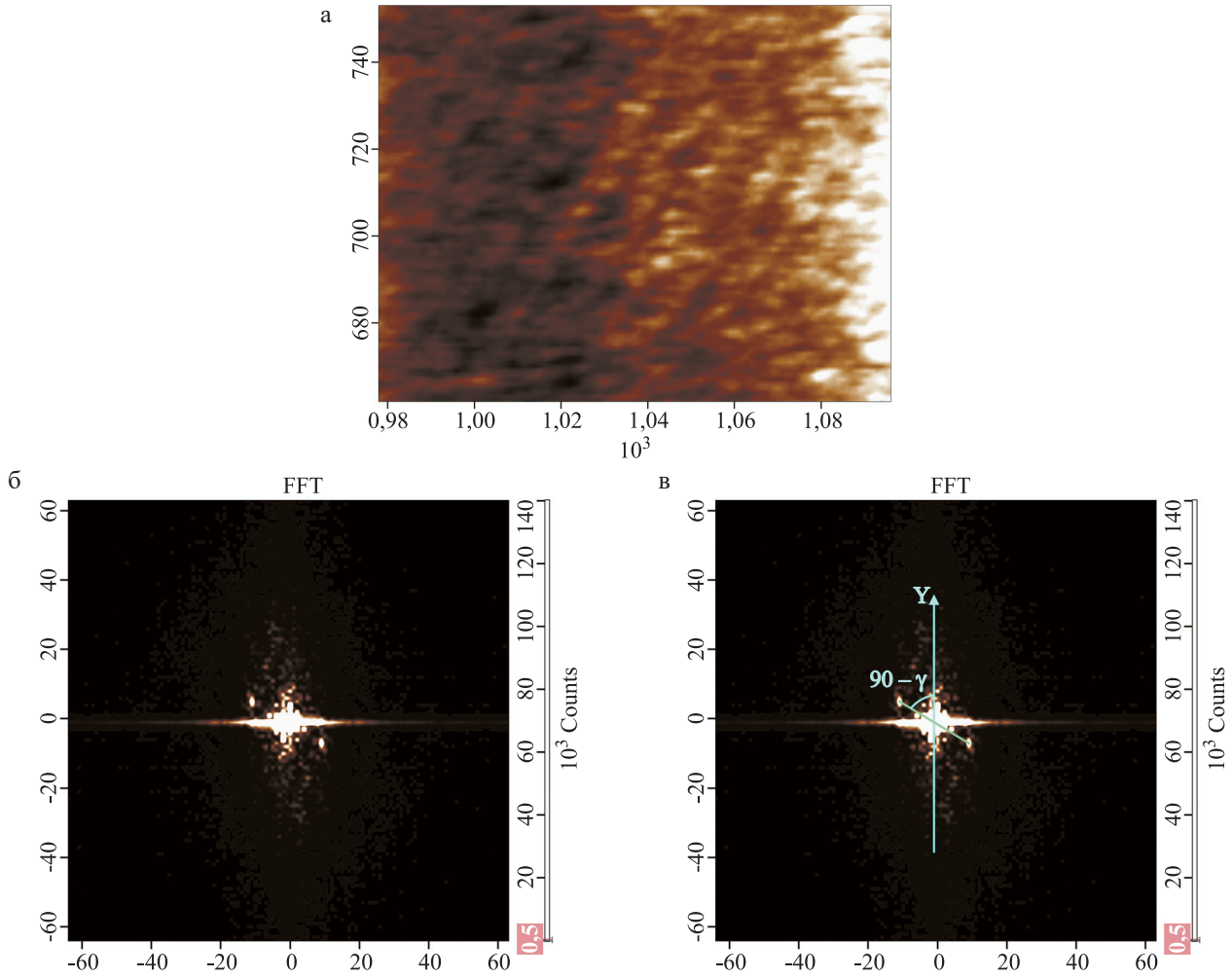


Рис. 2. Определение углов γ с помощью Фурье-преобразования: а – фрагмент скана, содержащий муаровый узор одной гексагональной решетки, по осям отложены номера пикселей; б – двухмерное Фурье-преобразование этого фрагмента, по осям отложены номера пикселей, вертикальная шкала сопоставляет значение каждого пикселя Фурье-преобразования с цветом; в – ось Y вместе с прямой, соединяющей максимум Фурье-преобразования и его центр, образуют угол 90° – γ

Fig. 2. Determination of the angle γ using the Fourier transform; a – scan fragment containing the moiré pattern of a single hexagonal lattice; pixel numbers are indicated along the axes; б – two-dimensional Fourier transform of the fragment, pixel numbers are shown along the axes, and the vertical scale maps the value of each pixel of the Fourier transform to a color; в – the Y-axis and the line connecting the Fourier transform maximum with its center form an angle of 90° – γ

Фурье в виде пятна в определенном диапазоне частот давал информацию о муаровом узоре. Расстояние пятна от центра Фурье-преобразования определяло период муаровых полос, в данной работе этот параметр не использовался. Угол между прямой, соединяющей центр Фурье-преобразования и центр его максимума, и осью Y, равен 90° – γ (рис. 2, в). Этот угол выделялся и измерялся на Фурье-преобразовании муара саркомера с помощью встроенной функции измерения углов в программе Nova. Суммарная погрешность определения угла поворота решетки α приведенными методами оценивается на уровне ±3°.

Статистическая обработка данных

Для проверки статистических гипотез использовался тест Колмогорова–Смирнова. Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием функций библиотеки SciPy программной среды Python.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сканирование среза препарата

Традиционным методом получения изображений молекулярных структур живых организмов является электронная микроскопия, как трансмиссионная (ТЭМ), так и сканирующая (СЭМ). В частности, с помощью электронной микроскопии и томографии в ряде работ были получены и проанализированы изображения и трехмерные реконструкции структуры миофибрилл [14–20, 26]. Используемые нами методы СЗНТ, объединяющие сканирующую зондовую микроскопию и ультрамикротомию, позволяют также определять трехмерный нанорельеф поверхности, ее механические свойства, а также такие трехмерные характеристики, как нанопористость биологических материалов [27], топологические и морфологические параметры клеточно-инженерных конструкций и внутриклеточных структур [25, 28, 29].

В данной работе получены СЗМ-изображения срезов препаратов мышечного волокна скелетной мышцы крысы, дающие богатую информацию о строении миофибрилл. При помощи ультрамикротома были выполнены срезы препарата под углом 15° к оси мышечного волокна, залитого в ловикрил, и получены СЗМ-изображения гексагональных решеток саркомеров под этим же углом, обозначаемым нами как угол β. Фрагмент скана поверхности препарата представлен на рис. 3, а. Цвет пикселей определяется высотой рельефа в соответствии с приведенной шкалой. Миофибриллы и их срезы вытянуты слева направо, видны чередующиеся ряды I-зон (светлые полосы) и A-зон (темные полосы), перпендикулярные направленности миофибрилл. На рис. 3, б выделены срезы отдельных миофибрилл, A-зоны и Z-диски. На срезе каждого саркомера обозначен угол γ (см. раздел «Определение ориентации гексагональной решетки»).

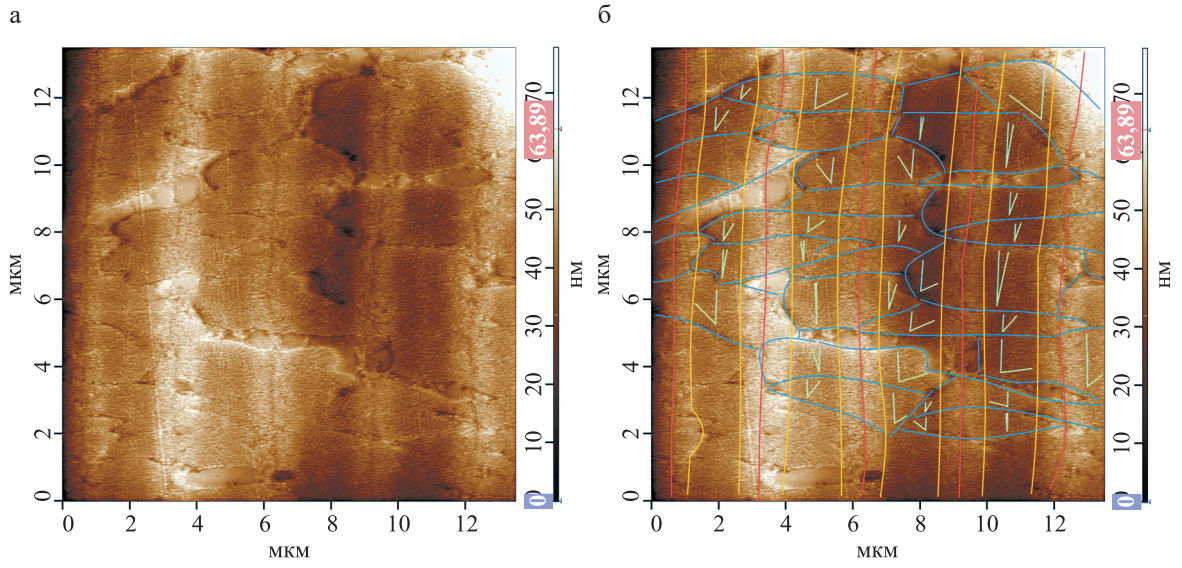


Рис. 3. Фрагмент скана среза препарата скелетной мышцы крысы в ловикриле: а – скан без разметки, по осям отложены микрометры, вертикальная шкала сопоставляет цвет каждого пикселя с высотой рельефа среза на этом пикселе; б – разметка фрагмента скана, синим контуром выделены срезы отдельных миофибрилл, голубые и зеленые линии на срезах саркомеров вместе образуют угол γ, красными контурами выделены середины Z-дисков, желтые контуры разграничивают A-зоны и I-зоны саркомеров

Fig. 3. Scan fragment of a rat skeletal muscle specimen embedded in Lowicryl: a – no annotation, the axed are indicated in micrometers, and the vertical scale represents the height of the section's surface relief by color coding each pixel; б – annotated scan fragment, blue outlines indicate cross-sections of individual myofibrils, the light blue and green lines on the sarcomere cross-sections form the angle γ, red outlines mark the centers of the Z-discs, while yellow outlines delineate the A-bands and I-bands of the sarcomeres

Определение ориентации гексагональной решетки

На сканах срезов гексагональных решеток саркомеров возникает так называемый муаровый узор (рис. 4, а). Он представляет из себя выпуклые параллельные полосы, направленные под некоторым углом к оси миофибриллы. Сами полосы состоят из параллельно идущих срезов миозиновых филаментов. На рис. 4, б, обозначен угол γ наклона муаровых полос к оси Y, перпендикулярной оси миофибриллы. По нему можно определить интересующий нас угол α ориентации гексагональной решетки саркомера относительно плоскости среза по формуле $tg(\alpha) = tg(\beta)tg(\gamma)$.

Угол α может принимать значения от –30° до 30°, так как ориентация гексагональной решетки повторяется через каждые 60° из-за ее радиальной симметрии. Всего угол α был измерен у 240 саркомеров по всей области сканирования. При этом 51 из 240 (21%) углов α оказался больше 30° по модулю. Такие значения не имеют смысла в рассматриваемой в работе модели гексагональной решетки. Они могут возникать по нескольким причинам. Во-первых, возможно некорректное определение угла наклона муаровой решетки γ, так как большие углы γ, по модулю близкие к 60° и более, имеют наибольшую погрешность определения. Во-вторых, возможно неточное соответствие заданного угла среза β фактическому углу наклона оси данной миофибриллы к плоскости среза, что приводит к систематической погрешности используемого в работе метода вычисления ориентации гексагональной решетки. Данные ошибки могут быть минимизированы путем разработки более сложного алгоритма вычисления углов поворота решетки α, с измерением дополнительного параметра шага муаровых полос для каждого анализируемого саркомера и решением возникающей системы из двух уравнений. Однако в рассматриваемом случае миофибрилл скелетных мышц отбрасываемые значения углов α не оказывают значимого влияния на статистическое распределение полученных результатов.

На гистограмме (рис. 5) представлено распределение ориентаций гексагональных решеток по распространенности. Из гистограммы исключены значения углов α, больше 30° по модулю. Гистограмма показывает, что у решеток на данной области сканирования нет предпочтительной ориентации.

Анализ поворотов гексагональных решеток

Одной из задач данной работы было проанализировать разности ориентаций (относительные повороты) гексагональных решеток соседних саркомеров одной миофибриллы. Необходимо учитывать, что при срезе мышечных волокон под углом β = 15° срезы миофибрилл получаются короткими, проходящими всего через 1–3 саркомера миофибриллы.

На рис. 6, а, представлен скан части среза миофибриллы. На срезах смежных саркомеров этой миофибриллы, разделенных Z-диском, видны муаровые узоры с разными углами наклона, обозначенными как γ_1 и γ_2 (рис. 6, б). Этим углам соответствуют ориентации гексагональных решеток этих саркомеров α_1 и α_2. Разность $\alpha_2 - \alpha_1 = x$ и является поворотом гексагональных решеток.

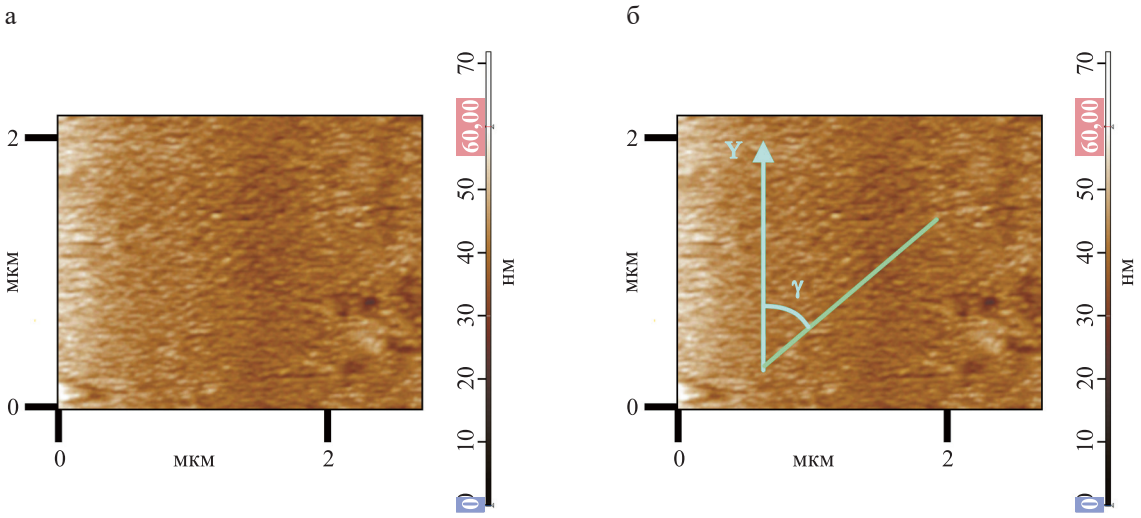


Рис. 4. Скан среза А-зоны саркомера препарата скелетной мышцы: а – отчетливо видны муаровые полосы; б – угол наклона муаровых полос γ, голубым обозначена ось y, зеленая линия проходит параллельно муаровым полосам

Fig. 4. Cross-sectional scan of the A-band of a sarcomere of a skeletal muscle specimen: a – moiré fringes are clearly visible; б – determination of the inclination angle γ of the moiré fringes: the y-axis is shown in blue, and the green line runs parallel to the moiré fringes

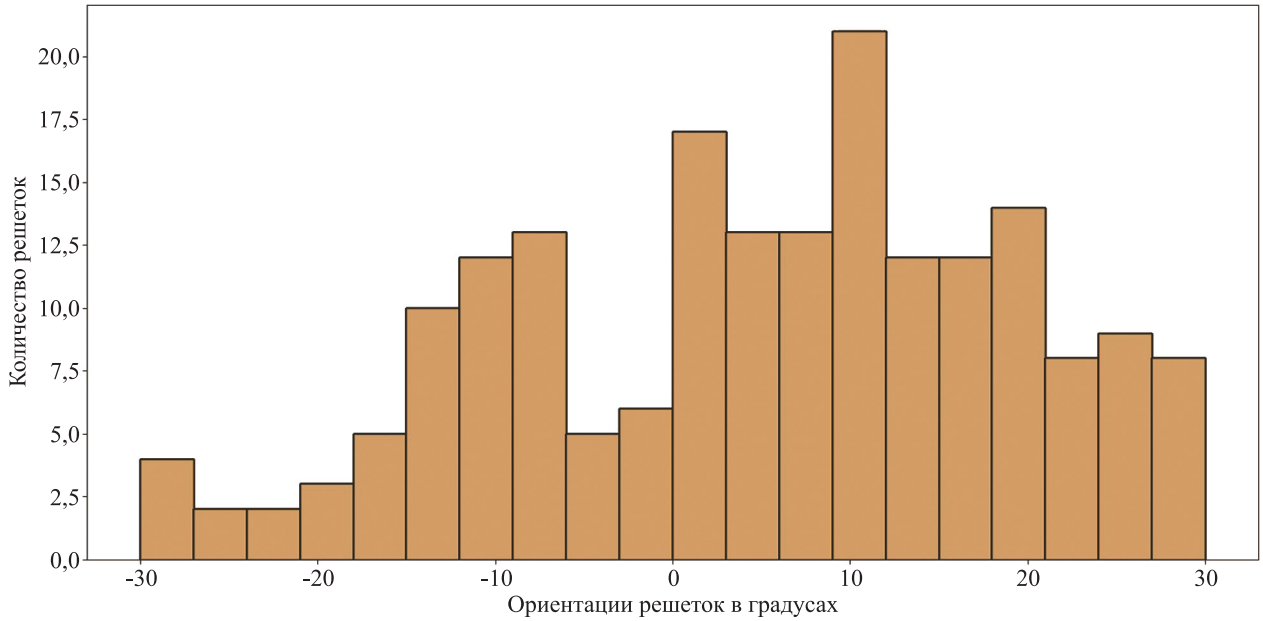


Рис. 5. Гистограмма распределения ориентаций α гексагональных решеток саркомеров со всего скана. По оси абсцисс отложены углы в градусах, а по оси ординат – количество решеток с данной ориентацией. Ширина каждого столбца диаграммы равна диапазону в три градуса. Столбцы, соответствующие не имеющим смысла значениям угла α, по модулю большим 30°, не показаны

Fig. 5. Histogram showing the distribution of α orientations of hexagonal sarcomere lattices across the entire scan. The x-axis represents angles (degrees), and the y-axis indicates the number of lattices with a given orientation. The width of each bar corresponds to a 3° interval. Bars representing non-informative values of α greater than ±30° are not shown

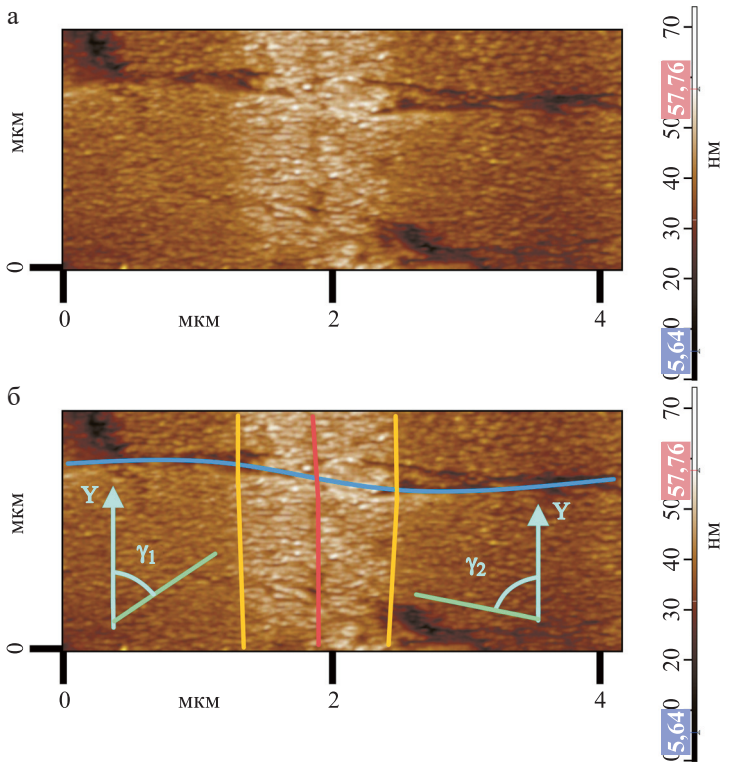


Рис. 6. Скан части среза миофибриллы препарата скелетной мышцы: а – скан без разметки; б – гексагональные решетки двух соседних саркомеров этой миофибриллы имеют разные ориентации, на что указывают разные углы наклона муаровых полос двух этих саркомеров, обозначенные, как γ_1 и γ_2

Fig. 6. A scan of a section of a myofibril cross section of a skeletal muscle specimen: a – no annotation; б – the hexagonal lattices of the two adjacent sarcomeres within this myofibril have different orientations, as indicated by the differing inclination angles of the moiré fringes of these two sarcomeres, denoted as γ_1 and γ_2

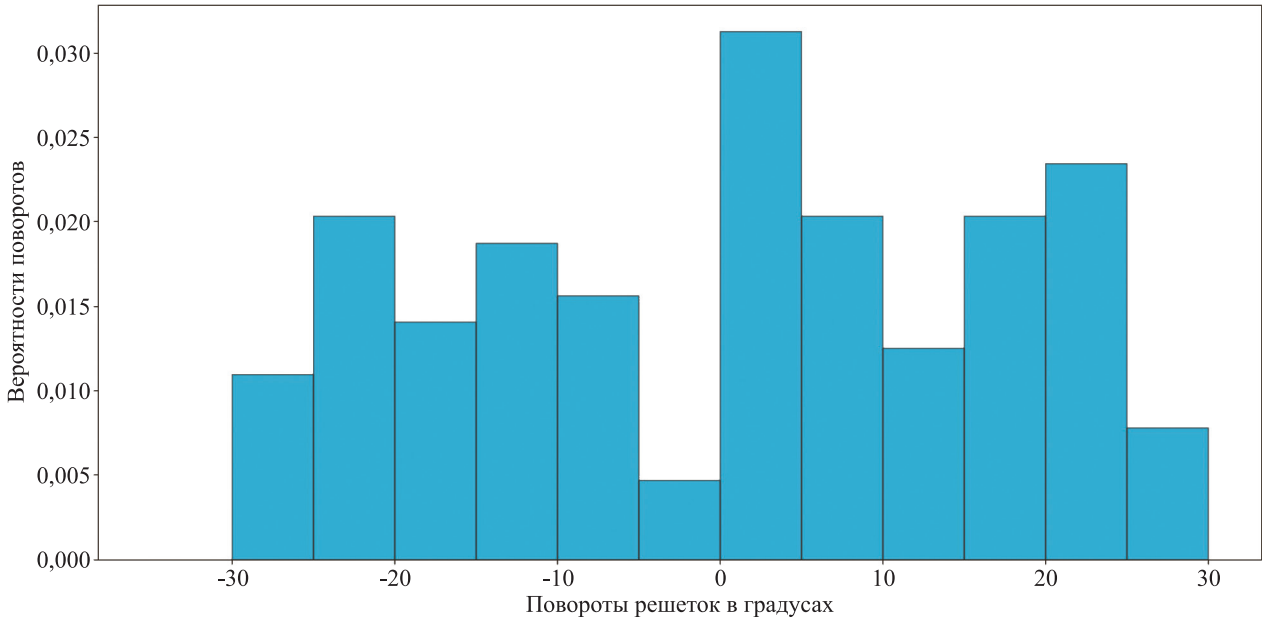


Рис. 7. Гистограмма распределения углов поворота гексагональных решеток вдоль миофибрилл. По оси абсцисс отложены повороты в градусах, а по оси ординат – вероятность такого поворота. Ширина каждого столбца диаграммы равна диапазону в пять градусов

Fig. 7. Histogram showing the distribution of rotation angles of hexagonal lattices along myofibrils. The x-axis represents rotations (degrees), and the y-axis indicates the probability of a given rotation. The width of each bar in the histogram corresponds to a 5° interval

При этом из-за симметрии гексагональной решетки ее повороты на x° и на (60 – |x|)° в противоположную сторону представляют из себя одно и то же. Поэтому для удобства, если поворот x был больше 30° по модулю, ему присваивалось значение (60 – |x|)° с противоположным знаком, меньшее 30° по модулю. Таким образом, повороты могли принимать значения $–30° \leq x \leq 30°$.

В работе были вычислены разности ориентаций двух соседних гексагональных решеток для 112 срезов миофибрилл по всей области сканирования, содержащих срезы 2 или 3 саркомеров, поэтому было получено более 112 поворотов. На гистограмме (рис. 7) представлено распределение поворотов гексагональных решеток по вероятности встретить такой поворот в обработанных нами данных. Углам α, большим 30° по модулю, присваивалось значение 30° или –30°, в зависимости от их знака, после чего они использовались в вычислении поворотов. Повороты решеток не подчиняются нормальному распределению по тесту Колмогорова–Смирнова ($p = 0,3$). Гистограмма показывает, что гексагональные решетки на данной области сканирования меняют свою ориентацию вдоль миофибрилл случайным образом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Существующие модели ультраструктурной организации саркомеров не описывают возможных механизмов изменений взаимной ориентации гексагональных решеток в саркомерах, а также каких-либо закономерностей подобных изменений. Тем не менее исследования, выполненные методом рентгеновской микродифракции [21, 22], показывают, что, например, у насекомых различных отрядов может наблюдаться как высокая, так и низкая степень интегральной согласованности ориентаций гексагональных решеток в саркомерах, вплоть до полного отсутствия подобной согласованности. Однако данный метод позволяет лишь интегрально оценить степень согласованности ориентаций решеток в объеме миофибриллы, которая может включать в себя несколько сотен саркомеров.

Таким образом, вопрос об анализе относительных углов поворота решеток миофиламентов в последовательных саркомерах на протяжении миофибриллы, а также соответствующих ультраструктурных особенностей систем миофиламентов на сегодняшний день остается открытым. В частности, это касается и мышечных тканей млекопитающих, для которых интегрально регистрируется промежуточная степень взаимной согласованности (поясничная мышца кролика) [22]. Это согласуется с полученными нами данными о низкой степени упорядоченности ориентаций гексагональных решеток вдоль миофибрилл в скелетных мышцах крысы.

Для решения поставленной задачи с использованием сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) был проведен анализ СЗМ-изображений поверхности

продольных срезов миофибрилл в клетках мышечной ткани после среза ультрамикротомом и разработан алгоритм вычисления угловой ориентации гексагональных актин-миозиновых решеток по муаровым структурам на изображениях срезов саркомеров. Данный алгоритм универсален и применим для анализа миофибрилл любых мышечных тканей.

Известно, что миофиламенты образуют гексагональную решетку в А-зонах саркомеров миофибрилл. В I-зонах актиновые филаменты образуют тетрагональную решетку, которая зафиксирована Z-диском, разграничивающим смежные саркомеры в миофибрилле. При этом современные модели структуры Z-дисков, с высокой точностью подтверждаемые рядом ультраструктурных исследований [14–17], показывают, что ориентации тетрагональных решеток актиновых миофиламентов смежных саркомеров согласованы между собой структурой общего Z-диска. Однако остается открытым вопрос о согласованности ориентаций тетрагональных решеток соседних Z-дисков вдоль одной миофибриллы. В исследуемом в работе образце поперечно-полосатой мышцы Z-диски смежных миофибрилл выстраивались в ряды, перпендикулярные миофибриллам, поэтому представляется целесообразным дальнейшая разработка алгоритмов для исследования закономерностей ориентаций тетрагональных решеток в этих рядах. Также можно исследовать наличие зависимостей ориентаций гексагональных решеток миофиламентов и ориентаций смежных им тетрагональных решеток актиновых филаментов.

Разработанные методы и алгоритмы могут быть применены для анализа не только скелетных, но и сердечных мышечных клеток – кардиомиоцитов, в том числе и с контролируемыми патологическими изменениями. Известно, что белковый состав сократительного аппарата у кардиомиоцитов и миоцитов скелетной мускулатуры заметно отличается. В частности, у человека примерами белков семейств миозина и актина, экспрессирующихся преимущественно в сердечной мышце, являются MYH6, MYL4, MYL7 и ACTC1. Другое семейство, связанное с мышечным сокращением белков, – это тропонины, регулирующие связывание миозина с актином посредством конформационных различий, зависящих от концентрации ионов кальция в клетках. Два представителя семейства тропонинов, экспрессирующихся исключительно в сердце, – это TNNI3 и TNNT2. Другие примеры включают миозин-связывающий белок MYBPC3, влияющий на сокращение посредством образования поперечных мостиков в саркомере, и белок кальциевого канала CACNA1C, регулирующий сокращение посредством входа ионов кальция в возбудимые клетки [30]. Также в ткани миокарда присутствуют вставочные диски, которые соединяют кпрдиомиоциты и обеспечивают механическую и электрическую связь между ними. При этом миофибриллы в кардиомиоцитах даже в пределах одной клетки имеют заметно больший угловой разброс направлений, чем в миоцитах скелетных мышц. Таким образом, нельзя исключать, что и аспекты наноструктурной организации миофиламентов, рассмотренные в данной работе, могут отличаться у кардиомиоцитов, что представляет интерес для дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ ориентаций решеток миофиламентов в смежных саркомерах с использованием технологии сканирующей зондовой нанотомографии позволил впервые в научной практике получить и статистически проанализировать данные о распределении их взаимных угловых поворотов. По результатам расчетов выявлена низкая степень согласованности ориентаций миозиновых решеток вдоль миофибрилл в скелетных мышцах крысы. Разработанные подходы и алгоритмы могут в дальнейшем быть применены для исследований особенностей наноструктуры мышечных клеток различных видов.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-24-20113, https://rscf.ru/project/24-24-20113/).

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Luther PK, Squire JM.* Three-dimensional structure of the vertebrate muscle A-band: II. The myosin filament superlattice. *J Mol Biol.* 1980; 141 (4): 409–439. doi: 10.1016/0022-2836(80)90254-5.
2. *Al-Khayat HA, Morris EP, Kensler RW, Squire JM.* 3D structure of relaxed fish muscle myosin filaments by single particle analysis. *J Struct Biol.* 2006; 155 (2): 202–217. doi: 10.1016/j.jsb.2006.01.014.
3. *Bordas J, Svensson A, Rothery M, Lowy J, Diakun GP, Boesecke P.* Extensibility and symmetry of actin filaments in contracting muscles. *Biophys J.* 1999; 77 (6): 3197–3207. doi: 10.1016/S0006-3495(99)77150-X.
4. *Squire J.* Special Issue: The actin-myosin interaction in muscle: background and overview. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (22): 5715. doi: 10.3390/ijms20225715.
5. *Henderson CA, Gomez CG, Novak SM, Mi-Mi L, Gregorio CC.* Overview of the muscle cytoskeleton. *Compr Physiol.* 2017; 7 (3): 891–944. doi: 10.1002/cphy.c160033.
6. *Mukund K, Subramaniam S.* Skeletal muscle: a review of molecular structure and function, in health and disease. *WIREs Syst Biol Med.* 2020; 12 (1): e1462. doi: 10.1002/wsbm.1462.

7. *Harris SP.* Making waves: A proposed new role for myosin-binding protein C in regulating oscillatory contractions in vertebrate striated muscle. *J Gen Physiol.* 2021; 153 (3): e202012729. doi: 10.1085/jgp.202012729.
8. *Mun JY, Gulick J, Robbins J, Woodhead J, Lehman W, Craig R*. Electron microscopy and 3D reconstruction of F-actin decorated with cardiac myosin-binding protein C (cMyBP-C). *J Mol Biol*. 2011; 410 (2): 214–225. doi: 10.1016/j.jmb.2011.05.010.
9. *Müller WG, Heymann JB, Nagashima K, Guttmann P, Werner S, Rehbein S et al.* Towards an atlas of mammalian cell ultrastructure by cryo soft X-ray tomography. *J Struct Biol.* 2012; 177 (2): 179–192. doi: 10.1016/j.jsb.2011.11.025.
10. *Narayan K, Subramaniam S.* Focused ion beams in biology. *Nature Methods.* 2015; 12 (11): 1021–1031. doi: 10.1038/nmeth.3623.
11. *Sulkin MS, Yang F, Holzem KM, Van Leer B, Bugge C, Laughner JI et al.* Nanoscale three-dimensional imaging of the human myocyte. *J Struct Biol.* 2014; 188 (1): 55–60. doi: 10.1016/j.jsb.2014.08.005.
12. *Glancy B, Hartnell LM, Malide D, Yu ZX, Combs CA, Connelly PS et al.* Mitochondrial reticulum for cellular energy distribution in muscle. *Nature.* 2015; 523 (7562): 617–620. doi: 10.1038/nature14614.
13. *Dahl R, Larsen S, Dohlmann TL, Qvortrup K, Helge JW, Dela F et al.* Three-dimensional reconstruction of the human skeletal muscle mitochondrial network as a tool to assess mitochondrial content and structural organization. *Acta Physiol (Oxf).* 2015; 213 (1): 145–155. doi: 10.1111/apha.12289.
14. *Luther PK.* The vertebrate muscle Z-disc: sarcomere anchor for structure and signalling. *J Muscle Res Cell Motil.* 2009; 30 (5–6): 171–185. doi: 10.1007/s10974-009-9189-6.
15. *Burgoyne T, Heumann JM, Morris EP, Knupp C, Liu J, Reedy MK et al.* Three-dimensional structure of the basketweave Z-band in midshipman fish sonic muscle. *PNAS.* 2019; 116 (31): 15534–15539. doi: 10.1073/pnas.1902235116.
16. *Rusu M, Hu Z, Taylor KA, Trinick J.* Structure of isolated Z-disks from honeybee flight muscle. *J Muscle Res Cell Motil.* 2017; 38 (2): 241–250. doi: 10.1007/s10974-017-9477-5.
17. *Oda T, Yanagisawa H.* Cryo-electron tomography of cardiac myofibrils reveals a 3D lattice spring within the Z-discs. *Commun Biol.* 2020; 3 (1): 585. doi: 10.1038/s42003-020-01321-5.
18. *Zoghbi ME, Woodhead JL, Moss RL, Craig R.* Three-dimensional structure of vertebrate cardiac muscle myosin filaments. *PNAS.* 2008; 105 (7): 2386–2390. doi: 10.1073/pnas.0708912105.
19. *Al-Khayat HA, Morris EP, Kensler RW, Squire JM.* Myosin filament 3D structure in mammalian cardiac muscle. *J Struct Biol.* 2008; 163 (2): 117–126. doi: 10.1016/j.jsb.2008.03.011.
20. *Burbaum L, Schneider J, Scholze S, Böttcher RT, Baumeister W, Schwille P et al.* Molecular-scale visualization of sarcomere contraction within native cardiomyocytes. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 4086. doi: 10.1038/s41467-021-24049-0.
21. *Iwamoto H, Nishikawa Y, Wakayama J, Fujisawa T.* Direct X-ray observation of a single hexagonal myofilament lattice in native myofibrils of striated muscle. *Biophys J.* 2002; 83 (2): 1074–1081. doi: 10.1016/S0006-3495(02)75231-4.
22. *Iwamoto H, Inoue K, Yagi N.* Evolution of long-range myofibrillar crystallinity in insect flight muscle as examined by Xray cryomicrodiffraction. *Proc R Soc B.* 2006; 273 (1587): 677–685. doi: 10.1098/rspb.2005.3389.
23. *Tune TC, Ma W, Irving T, Sponberg S.* Nanometer-scale structure differences in the myofilament lattice spacing of two cockroach leg muscles correspond to their different functions. *Journal of Experimental Biology.* 2020; 223 (Pt 9): jeb212829. doi: 10.1242/jeb.212829.
24. *Ma W, Gong H, Jani V, Lee KH, Landim-Vieira M, Papadaki M et al*. Myofibril orientation as a metric for characterizing heart disease. *Biophys J*. 2022; 121 (4): 565–574. doi: 10.1016/j.bpj.2022.01.009.
25. *Matsko N, Mueller M*. AFM of biological material embedded in epoxy resin. *J Struct Biol.* 2004; 146 (3): 334–343. doi: 10.1016/j.jsb.2004.01.010.
26. *Traeger L, Mackenzie J, Epstein H, Goldstein M.* Transition in the thin-filament arrangement in rat skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil.* 1983; 4 (3): 353–366. doi: 10.1007/BF00712001.
27. *Efimov AE, Moisenovich MM, Bogush VG, Agapov II.* 3D nanostructural analysis of silk fibroin and recombinant spidroin 1 scaffolds by scanning probe nanotomography. *RSC Adv.* 2014; 4: 60943–60947. doi: 10.1039/c4ra08341e.
28. *Efimov AE, Agapova OI, Safonova LA, Bobrova MM, Parfenov VA, Koudan EV et al.* 3D scanning probe nanotomography of tissue spheroid fibroblasts interacting with electrospun polyurethane scaffold. *Express Polymer Letters.* 2019; 13 (7): 632–641. doi: 10.3144/expresspolymlett.2019.53.
29. *Balashov V, Efimov A, Agapova O, Pogorelov A, Agapov I, Agladze K.* High resolution 3D microscopy study of cardiomyocytes on polymer scaffold nanofibers reveals formation of unusual sheathed structure. *Acta Biomaterialia.* 2018; 68: 214–222. doi: 10.1016/j.actbio.2017.12.031.
30. *Lindskog C, Linné J, Fagerberg L, Hallström BM, Sundberg CJ, Lindholm M et al.* The human cardiac and skeletal muscle proteomes defined by transcriptomics and antibody-based profiling. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 475. doi: 10.1186/s12864-015-1686-y.

Статья поступила в редакцию 3.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 3.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-94-103

Т-ЛИМФОЦИТАРНЫЙ КОНТРОЛЬ АНГИОГЕНЕЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Н.В. Тишевская

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Российская Федерация

Т-лимфоциты не только обеспечивают клеточный иммунитет, но и контролируют пролиферацию, дифференцировку и созревание клеток различных тканей-мишеней, регулируя процессы физиологической и репаративной регенерации. Доказано, что эти клетки участвуют в восстановлении структуры паренхиматозных органов, стимулируют остеогенную дифференцировку мезенхимальных клеток, активируют нейрогенез, а также регулируют миогенез и ангиогенез. В данном обзоре рассмотрены механизмы участия Т-лимфоцитов в регуляции восстановительных процессов, происходящих в сосудистом русле: особенности межклеточного взаимодействия Т-лимфоцитов с эндотелием, роль хемокиновых рецепторов в адгезии Т-клеток к эндотелиоцитам, их способность синтезировать ангиогенные факторы роста, такие как интерферон-γ, фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), фактор некроза опухоли α (TNF-α), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), амфирегулин и многие интерлейкины. Также в обзоре охарактеризованы возможности Т-лимфоцитарного контроля посттранскрипционной регуляции экспрессии генов в эндотелиальных клетках посредством малых некодирующих молекул РНК (микроРНК) – приведены сведения о механизмах реализации ангиогенных эффектов микроРНК, обнаруженных ранее в Т-лимфоцитах: микроРНК-16, -21, -25, -150, -155, -181, -451.

Ключевые слова: ангиогенез, эндотелиоциты, Т-лимфоциты, микроРНК.

T CELLS AS REGULATORS OF ANGIOGENESIS (A LITERATURE REVIEW)

N.V. Tishevskaya

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

T cells not only provide cellular immunity, but also exert control over the proliferation, differentiation, and maturation of cells across diverse target tissues, thereby regulating both physiological and reparative regenerative processes. Evidence demonstrates that these cells contribute to the restoration of parenchymal organ structures, promote osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells, activate neurogenesis, and modulate myogenesis and angiogenesis. This review focuses on the mechanisms by which T cells regulate reparative processes within the vascular system, highlighting key aspects such as cell–cell interactions between T cells and endothelial cells, the role of chemokine receptors in mediating T-cell adhesion to the endothelium, and their capacity to synthesize angiogenic growth factors including interferon-γ (IFN-γ), vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF), tumor necrosis factor-α (TNF-α), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), amphiregulin, and a broad range of interleukins. The review also describes the ability of T cells to control post-transcriptional regulation of gene expression in endothelial cells through small non-coding RNA molecules (miRNAs). Specifically, information is provided on the angiogenic roles of miRNAs previously identified in T cells: miR-16, miR-21, miR-25, miR-150, miR-155, miR-181, and miR-451, and the mechanisms through which they mediate these effects.

Keywords: angiogenesis, endothelial cells, T cells, miRNA.

Регенерация эндотелия и образование новых сосудов происходят на протяжении всей жизни многоклеточного организма. Эти процессы представляют собой активный ответ тканей на повреждение, направленный на восстановление структуры и функций эндотелиального барьера, что в конечном итоге

Для корреспонденции: Тишевская Наталья Викторовна. Адрес: 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64. Тел. (351) 232-74-67. E-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Corresponding author: Natalya Tishevskaya. Address: 64, Vorovskogo str., Chelyabinsk, 454092, Russian Federation. Phone: (351) 232-74-67. E-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

обеспечивает полноценную доставку кислорода, питательных веществ и биологически активных соединений клеткам. Регенерация нормально функционирующего эндотелия с образованием полноценных контактов между эндотелиоцитами осуществляется двумя путями: 1) благодаря миграции и пролиферации резидентных эндотелиальных клеток; 2) за счет эндотелиальных клеток-предшественниц костного мозга (ангиобластов), которые дифференцируются в зрелые эндотелиальные клетки (рис. 1).

Регенерация эндотелиальных клеток и ангиогенез в целом запускаются не столько вследствие непосредственного разрушения сосудов, сколько благодаря изменению тканевого баланса между стимулирующими и ингибирующими ангиогенными факторами. Среди множества ангиогенных факторов главную роль играют фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста β (TGF-β), ангиостатин, интерферон-γ. Кроме этого, в регуляции ангиогенеза принимают участие фактор роста гепатоцитов, матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы, эндостатин, тромбоспондин-1 и многие другие. Источниками этих соединений являются сами эндотелиоциты, макрофаги, дендритные клетки, а также циркулирующие клетки крови – тромбоциты и лейкоциты. В данном обзоре мы рассмотрим механизмы участия Т-лимфоцитов в регуляции восстановительных процессов, происходящих в сосудистом русле в физиологических условиях и при патологии.

Как известно, Т-лимфоциты не только обеспечивают клеточный иммунитет, но и контролируют пролиферацию, дифференцировку и созревание клеток различных тканей-мишеней, регулируя процессы физиологической и репаративной регенерации [2]. Доказано, что эти клетки участвуют в восстановлении структуры паренхиматозных органов [3], стимулируют остеогенную дифференцировку мезенхимальных клеток [4], активируют нейрогенез в структурах головного мозга [5], а также регулируют миогенез и ангиогенез [6]. Механизм взаимодействия Т-лимфоцитов с эндотелиальным монослоем сосудов описан достаточно подробно. Он представляет собой образование непосредственного контакта Т-клетки с поверхностью эндотелиоцитов с последующим проникновением Т-лимфоцита в межэндотелиальное пространство. Этот процесс осуществляется в несколько этапов (рис. 2).

Взаимодействие Т-клетки с поверхностью эндотелия начинается с так называемого роллинга – прокатывания Т-лимфоцита по внутренней поверхности сосуда. Затем за счет экспрессирующихся на поверхности эндотелиоцитов адгезивных молекул и интегринов Т-лимфоцит прикрепляется к мембране эндотелиоцита и начинает двигаться к ближайшему межэндотелиальному промежутку. При этом происходит ремоделирование цитоскелета Т-лимфоцита, благодаря чему он проникает внутрь сосудистой стенки. Помимо участия классических адгезивных молекул в механизме своей трансэндотелиальной миграции Т-лимфоциты используют антигензависимый путь взаимодействия молекул главного комплекса гистосовместимости эндотелия с Т-клеточным рецептором.

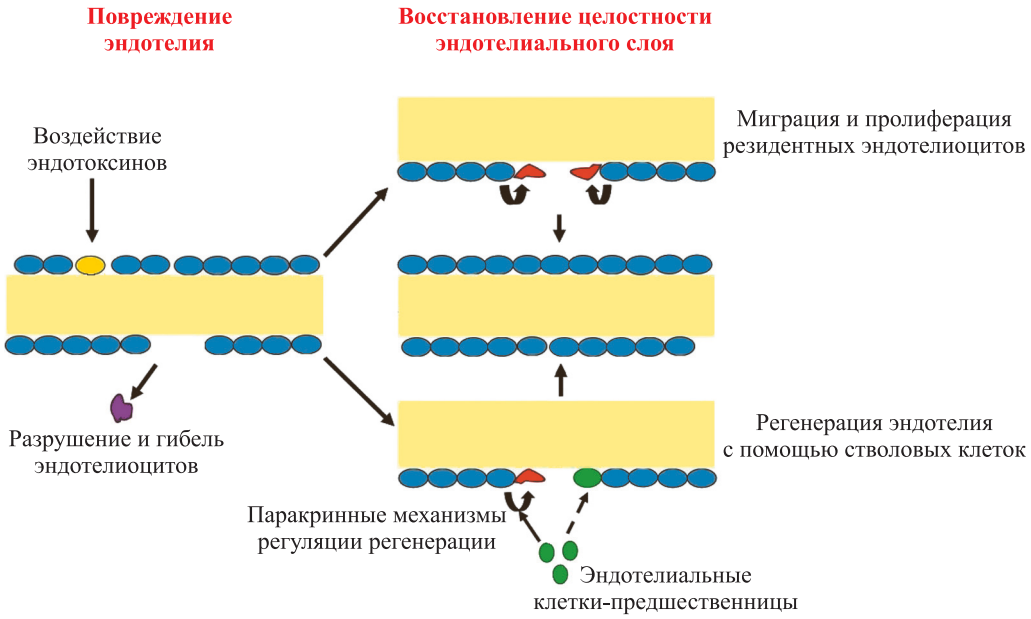


Рис. 1. Механизмы регенерации эндотелия [1]

Fig. 1. Mechanisms of endothelial regeneration [1]

МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ И ГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ НА ЭНДОТЕЛИЙ

При непосредственном контакте с эндотелиальными клетками активированные Т-лимфоциты начинают выделять микровезикулы (рис. 3), содержащие множество биологически активных веществ, в частности интерферон γ, фактор некроза опухоли α и митохондриальный белок митофилин [8]. Активированные $CD4^+$ Т-клетки вызывали перестройку цитоскелета эндотелиальных клеток, увеличивая в них экспрессию актина, в результате чего после 24-часовой совместной инкубации эндотелиоциты приобрели веретенообразную форму.

Установлено, что в норме $CD4^+$ Т-лимфоциты защищают эндотелиоциты от апоптоза и подавляют воспалительный процесс в интиме легочных сосудов [9]. В этом эксперименте у гомозиготных бестимусных крыс моделировали легочную гипертензию путем введения им пептида SU5416 – специфического ингибитора рецепторов 2-го типа к фактору роста эндотелия сосудов (VEGFR-2). Через 6–8 недель у подопытных животных развивалась эндотелиальная дисфункция, сопровождающаяся частичной облитерацией легочных сосудов, повышением давления крови в легочной артерии и признаками гипертрофии правого желудочка. Однако если этим бестимусным животным до инъекции SU5416 вводили цельную взвесь лимфоидных клеток селезенки гетерозиготных крыс с нормально функционирующим тимусом,

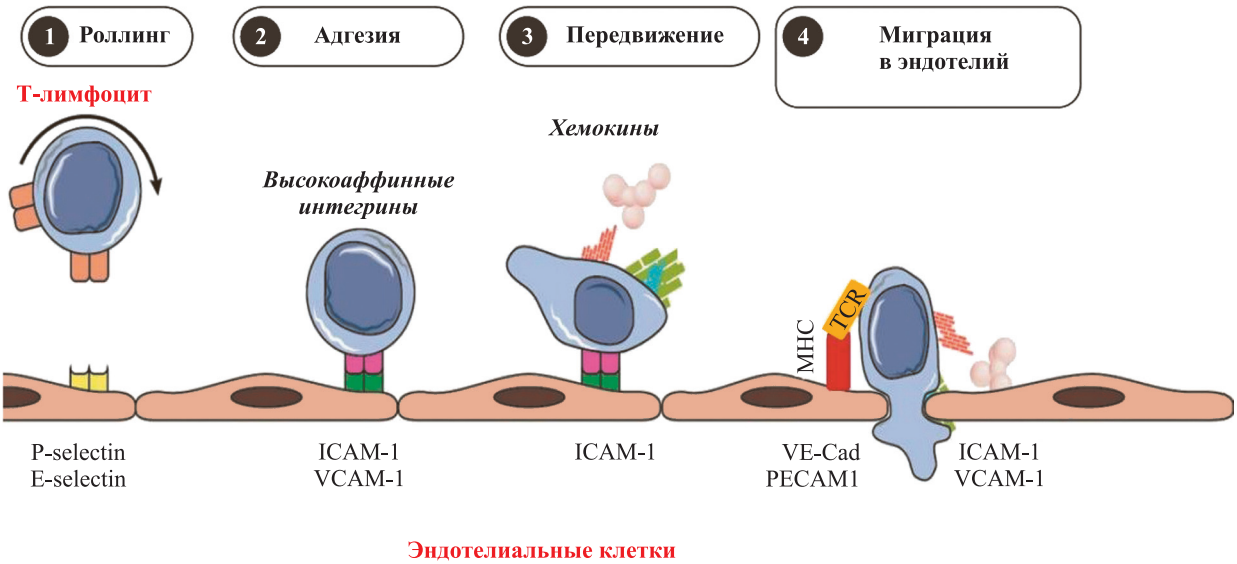


Рис. 2. Механизм проникновения Т-лимфоцита в эндотелий [7]

Fig. 2. Mechanism regulating T cell penetration into the endothelium [7]

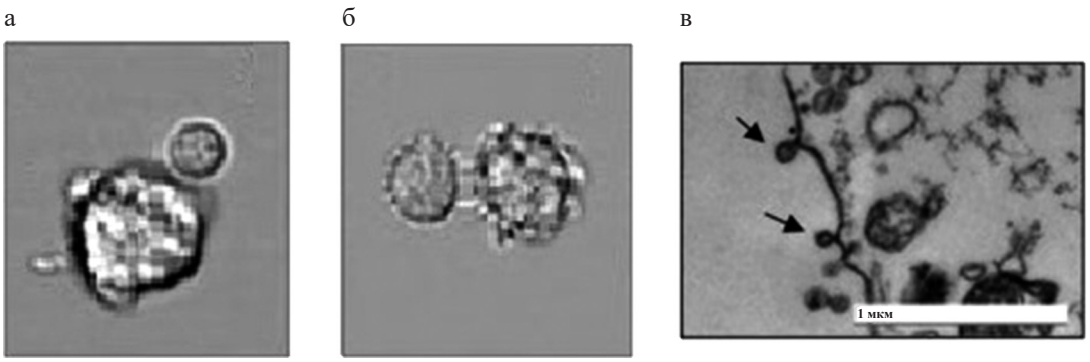


Рис. 3. Межклеточные взаимодействия Т-лимфоцитов и эндотелиальных клеток: а – контакт неактивированного $CD4^+$ Т-лимфоцита с эндотелиоцитом; б – контакт активированного $CD4^+$ Т-лимфоцита с эндотелиоцитом; в – образование микровезикул на мембране активированного Т-лимфоцита. Электронная микроскопия [8]

Fig. 3. Cell-cell interactions between T cells and endothelial cells: a – contact between an unactivated $CD4^+$ T cell and an endothelial cell; б – contact between an activated $CD4^+$ T cell and an endothelial cell; в – formation of microvesicles on the membrane of an activated T cell. Electron microscopy [8]

морфологические и функциональные признаки легочной гипертензии были минимальными. Из этого следовало, что лимфоциты здоровых доноров оказывали защитное действие в отношении сосудов крыс-реципиентов. На втором этапе выделенные из селезенки здоровых доноров $CD4^+$ Т-лимфоциты и цитотоксические Т-клетки ($CD8^+$) по отдельности вводили бестимусным крысам с легочной гипертензией. У животных, получивших цитотоксические лимфоциты, возникло такое же нарушение легочного кровотока, как и в контрольной группе крыс, т. е. Т-клетки $CD8^+$ не обладали никакой проангиогенной активностью. В то же время у животных, получивших $CD4^+$ Т-лимфоциты, эндотелий сосудов не повреждался, и легочная гипертензия не развивалась. В легочной ткани у этих крыс выявлялась выраженная инфильтрация периваскулярных пространств лимфоцитами $CD4^+$ Т-клетками, количество которых достоверно увеличилось и в периферической крови. Авторы предположили, что защитный эффект $CD4^+$ лимфоцитов может быть связан со стимуляцией ими экспрессии в клетках легочной ткани рецепторов костного морфогенетического белка II типа (BMPR2), которые, как известно, препятствуют развитию эндотелиальной дисфункции в сосудах и обладают антиапоптозной активностью. При исследовании биоптатов легочной ткани крыс с легочной гипертензией, получивших донорские Т-хелперы до введения SU5416, было обнаружено, что BMPR2 секретировали только те клетки, которые располагались в непосредственной близости от Т-лимфоцитов. На третьем этапе работы интактным животным ввели антитела против Т-хелперов. Лишившись 98% этих клеток, исходно здоровые крысы оказались беззащитны перед повреждающим действием SU5416, после инъекции которого у них активировались процессы апоптоза в эндотелии.

Снижение регенераторной способности эндотелия при старении тоже может быть связано с дисфункцией морфогенетически активных Т-лимфоцитов. Так, в недавнем исследовании состояния сосудов у тимэктомированных мышей [10] были получены данные о том, что в 9-месячном возрасте у этих животных по сравнению с контрольной группой наблюдалось более высокое содержание как $CD4^+$, так и $CD8^+$ Т-клеток памяти в крови, стенках аорты и сосудах брыжейки. Наряду с этим у тимэктомированных мышей наблюдалось повышение жесткости крупных артерий и более выраженное отложение коллагена в аорте, а также нарушение эндотелий-зависимой дилатации брыжеечных артерий вследствие снижения биодоступности оксида азота.

При кислород-индуцированной ретинопатии у здоровых мышей были обнаружены разрастающиеся очаги сосудистого роста с большим количеством $CD8^+$ Т-лимфоцитов [11], а у генетически модифицированных мышей с дефицитом $CD8^+$ Т-лимфоцитов в таком же эксперименте неоваскуляризация сетчатки и сосудистая проницаемость оказались значительно сниженными. При адоптивном переносе этим животным донорских $CD8^+$ Т-клеток было установлено, что указанные лимфоциты мигрируют в сетчатку благодаря активации хемокинового рецептора CXC-3. Высокая чувствительность хемокиновых рецепторов является основой хоминга Т-лимфоцитов. В зависимости от изменения цитокинового окружения Т-клетки экспрессируют разные хемокиновые рецепторы, что и определяет адресность их морфогенетической функции. Так, было показано, что при репаративной регенерации почечной ткани в зоне повреждения появляются Т-лимфоциты, оказывающие проангиогенное и прорегенеративное действие, а при развитии фиброза приходящие в очаг Т-клетки обладали провоспалительным эффектом [12].

Одной из особенностей морфогенетически активных Т-лимфоцитов является их устойчивость к гипоксии, что позволяет этим клеткам выполнять свои тканеспецифические функции и в условиях ишемии ткани. Путем прямых замеров было установлено, что напряжение O_2 в периферических лимфоидных органах намного меньше этого показателя в других тканях. Так, в наиболее удаленных от артерий участках лимфатических узлов и селезенки напряжение O_2 составляет 7–20 мм рт. ст., тогда как в других паренхиматозных органах – 35–40 мм рт. ст. При инкубации в среде с напряжением O_2 18 мм рт. ст. Т-лимфоциты увеличивали синтетическую активность, в отличие от Т-клеток, находящихся при нормальном или повышенном содержании O_2 [13]. Резистентность лимфоцитов к пониженному содержанию O_2 в окружающем межклеточном пространстве имеет большое значение, поскольку репаративная регенерация часто протекает в условиях вынужденной тканевой гипоксии, нарастающей при нарушении кровотока в поврежденной области. Следовательно, в здоровом организме должны существовать механизмы, поддерживающие регенерационный потенциал тканей и ангиогенез в условиях кислородной недостаточности, и Т-лимфоциты с их морфогенетическими свойствами и резистентностью к гипоксии вполне могут претендовать на одну из главных ролей в этом процессе. Показано, что при развитии сосудистой патологии ангиопротекторные эффекты лимфоидных клеток связаны с усилением ими экспрессии HIF-1α (индуцируемого гипоксией фактора) [14].

Тканеспецифичные Т-лимфоциты при активации синтезируют большое количество ангиогенных цитокинов и тканевых факторов роста: интерлейкины-1, -2, -4, -5, -6, -8, -10, -13, -15, интерферон-γ, VEGF, FGF, фактор некроза опухоли α (TNF-α), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) [15–17]. Синтетическая функция Т-лимфоцитов напрямую связана с

изменением процессов метаболического программирования. После активации в Т-клетках усиливался аэробный гликолиз, способствующий увеличению продукции ими интерферона-γ, секреция которого считается одним из важнейших механизмов Т-лимфоцитарного контроля роста и выживания эндотелиоцитов [18]. Помимо эффекторных Т-клеток ангиогенез в тканях могут модулировать и регуляторные Т-клетки $Foxp3^+$ (Treg), напрямую потенцируя пролиферацию эндотелиальных клеток [19].

При изучении Т-лимфоцитарного контроля ангиогенеза особое значение придается амфирегулину – трансмембранному белку-предшественнику и лиганду рецептора эпидермального фактора роста. Амфирегулин синтезируют Т-хелперы, наивные Т-клетки (Th0) [20] и Treg [21]. В эксперименте на мышах с диабетогенной мышечной ишемией были получены данные о том, что интенсивность неоваскуляризации у этих животных зависела от повышенной способности Treg-клеток секретировать амфирегулин [22], а другие авторы доказали, что выделенный Treg-лимфоцитов амфирегулин напрямую стимулирует активность эндотелиальных клеток *in vitro* [21, 23]. При неоваскуляризации миокарда после острого инфаркта миокарда одновременно с амфирегулином клетки Treg секретируют VEGF и факторы роста фибробластов (FGF), стимулируя пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, а также образование эндотелиальных трубок в культуре [23] как в физиологических, так и в гипоксических условиях. При этом подавление экспрессии амфирегулина в Treg-клетках путем трансфекции shRNA (короткой шпилечной РНК S4A-S4B) приводило к торможению пролиферативной и миграционной активности эндотелиоцитов и препятствовало формированию эндотелиальных трубчатых структур.

ВОЗМОЖНОСТИ Т-ЛИМФОЦИТАРНОГО КОНТРОЛЯ ПОСТТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

В опытах на быстро регенерирующей ткани, проведенных в условиях *in vivo* и *in vitro*, показано, что суммарная РНК, выделенная из клеток лимфоидных органов, влияет на восстановление красного ростка кроветворения, стимулируя компенсационный эритропоэз в костном мозге облученных крыс [24] и активируя процессы пролиферации и дифференцировки эритроидных клеток в культуре [25, 26]. При этом при добавлении в культуральную среду лимфоцитарной РНК вокруг формирующейся «короны» эритроидных клеток эритробластических островков всегда наблюдалось скопление лимфоцитов. В медленно регенерирующей ткани щитовидной железы введение лимфоцитарной суммарной РНК приводило к увеличению содержания VEGF в 2,5 раза, увеличению площади сосудистого русла в 2 раза и повышению интенсивности микроциркуляции на 65% [27]. Мы полагаем, что стимулирующее действие суммарной лимфоцитарной РНК, вероятнее всего, связано с входящими в ее состав микромолекулами РНК, адресованными эритроидным клеткам или костномозговым макрофагам, участвующим в эритропоэзе.

К настоящему времени имеются убедительные доказательства того, что эпигенетический контроль многих физиологических и патологических процессов осуществляется малыми некодирующими молекулами РНК (микроРНК), которые секретируются практически всеми клетками организма и регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, в том числе и экспрессию генов в эндотелиальных клетках [28]. МикроРНК способствуют ангиогенезу, воздействуя на 3'-нетранслируемую область генов-мишеней, стимулируя синтез проангиогенных факторов, таких как VEGF, FGF, и HIF-1α [29]. На сегодняшний день в цитоплазме и экзосомах регуляторных и эффекторных Т-лимфоцитов обнаружено более 100 различных микроРНК [30–34], некоторые обладают доказанным ангиогенным или антиангиогенным действием, в частности микроРНК-16, -21, -25, -150, -155, -181, -451.

МикроРНК-16 ингибирует экспрессию VEGF, сдерживая избыточную васкуляризацию при регенерации тканей [35]. Так, в супернатанте культивируемых клеток со сверхэкспрессией микроРНК-16 количество VEGF было снижено в 2,7 раза, а в супернатанте клеток с пониженной экспрессией микроРНК-16 – повышено в 1,3 раза по сравнению с контрольными культурами. Кроме того, было показано, что микроРНК-16 подавляет миграцию эндотелиоцитов и процесс формирования капилляроподобных структур эндотелиальными клетками пупочной вены человека (рис. 4).

МикроРНК-21 изменяет экспрессию ключевых молекул ангиогенеза, таких как VEGF, HIF-1α, и модулирует сигнальные пути TGF-β [36]. Например, в опухолевых клетках микроРНК-21 способствует стабилизации HIF-1α и повышению экспрессии других факторов, связанных с ангиогенезом, таких как VEGF, тем самым усиливая образование кровеносных сосудов в опухолевых тканях [37]. Покрытие костных титановых имплантатов наночастицами, содержащими микроРНК-21, способствует экспрессии одного из основных белков межклеточных контактов эндотелиальных клеток PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1). В результате в месте контакта имплантата и собственной костной ткани усиливается ангиогенез, и это приводит к более быстрой и эффективной остеоинтеграции [38]. МикроРНК-21 стимулирует дифференцировку костномозговых мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в эн-

дотелиоциты [39]. МСК культивировали в течение 3 дней, затем высевали на матригель с пониженным содержанием факторов роста. После 4-часовой инкубации регистрировали появление трубчатых эндотелиальных структур, анализируя общую длину капиллярных трубок и количество точек разветвления. В результате были получены данные о том, что по сравнению с контролем в культурах, содержащих микроРНК-21, общая длина капиллярных трубок увеличилась в 5,3 раза, а количество точек разветвления – в 4,8 раза (рис. 5).

Предполагается, что прямой мишенью микроРНК-21 является сигнальный белок Spry1 (Protein sprouty homolog 1). МикроРНК-21 подавляет экспрессию Spry1, блокируя его негативное влияние на функциональную активность VEGF, что приводит к усилению ангиогенеза [40].

Ангиогенная функция микроРНК-25 была охарактеризована в работе, посвященной изучению ангиогенеза при старении [41]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было показано, что на поздних сроках онтогенеза микроРНК-25-3p играет роль проангиогенного фактора, воздействуя на сигнальный путь TULA-2/SYK/VEGFR-2 в эндотелиальных клетках. В эндотелиальных клетках стареющего организма повышение уровня miR-25-3p в конечном итоге усиливало процесс фосфорилирования рецептора к эндотелиальному фактору роста, что способствовало регенерации капиллярного русла и восстановлению кровотока в ишемизированных задних конечностях стареющих мышей. Подобное ангиогенное действие было обнаружено у микроРНК-375 при изучении диабетической ангиопатии [42]. У людей с сахарным диабетом и диабетогенных мышей при развитии кри-



Рис. 4. Влияние микроРНК-16 на процесс формирования капилляроподобных структур эндотелиоцитами пупочной вены человека. Инвертированная микроскопия [35]

Fig. 4. Effect of miRNA-16 on the formation of capillary-like structures by human umbilical vein endothelial cells. Inverted microscopy [35]

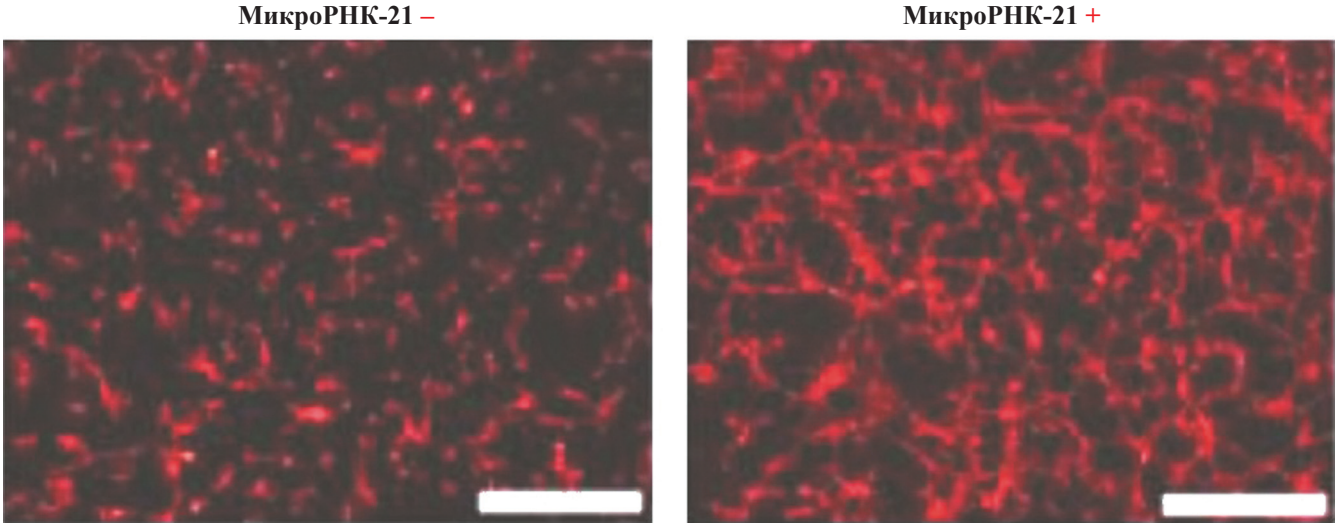


Рис. 5. Влияние микроРНК-21 на процесс формирования капилляроподобных структур мезенхимальными стромальными клетками. Конфокальная микроскопия [39]

Fig. 5. Effect of miRNA-21 on the formation of capillary-like structures by mesenchymal stem cells. Confocal microscopy [39]

тической ишемии конечностей было выявлено значительное снижение микроРНК-375 в плазме крови. В экспериментах *in vivo* были получены данные о том, что эта микроРНК индуцирует миграцию эндотелиоцитов и их пролиферацию. Внутримышечное введение микроРНК-375 после временной перевязки бедренной артерии восстанавливало кровоток в задних конечностях мышей с диабетом за счет роста новых капилляров.

Выраженным проангиогенным действием обладает и активно экспрессирующаяся в Т-лимфоцитах микроРНК-150 [43, 44]. МикроРНК-150 способствует дифференцировке ранних эндотелиальных клеток-предшественниц в зрелые эндотелиоциты, а также стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток в культуре. При подкожной имплантации гелевого сгустка, содержащего микроРНК-150, 6-недельным бесшерстным мышам в окружающих тканях через 7 дней наблюдалось усиленное разрастание капиллярной сети. Полное отсутствие микроРНК-150 приводило к торможению васкуляризации (рис. 6).

Влияние микроРНК-155 было изучено на модели физиологического ангиогенеза в сетчатке глаза новорожденных мышей [45]. Первичное сосудистое сплетение формируется из диска зрительного нерва в течение первой недели после рождения. Под воздействием VEGF и фибронектина, продуцируемого проангиогенными астроцитами, микроциркуляторная сосудистая сеть начинает радиально разрастаться по направлению к периферии сетчатки. Установлено, что микроРНК-155 участвует в формировании подосом, необходимых для адгезии эндотелиальных клеток. Нормальная экспрессия этой микроРНК способствует адекватному формированию сосудистой сети в сетчатке. После инъекции этой некодирующей РНК в стекловидное тело в сетчатке 4-дневных мышей увеличивалась плотность капиллярной сети и ее радиальная протяженность (рис. 7), а при окрашивании препаратов VE-кадгерином было обнаружено увеличение межклеточных контактов в эндотелиальном монослое. Отсутствие микроРНК-155 приводило к противоположным эффектам.



Рис. 6. Влияние микроРНК-150 на васкуляризацию гелевого сгустка [44]

Fig. 6. Effect of miRNA-150 on gel clot vascularization [44]

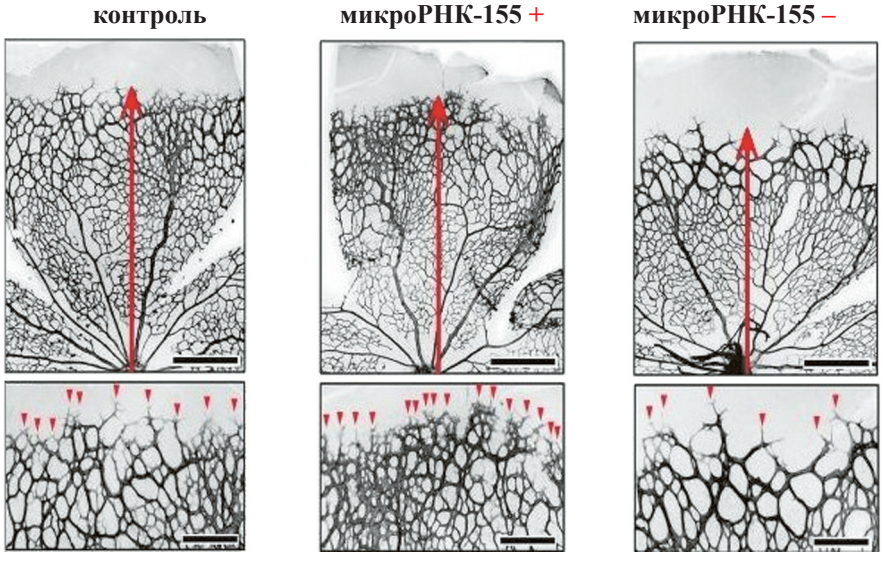


Рис. 7. Влияние микроРНК-155 на неоангиогенез в сетчатке глаза новорожденных мышей [45]

Fig. 7. Effect of miRNA-155 on neoangiogenesis in the retina of newborn mice [45]

МикроРНК-181 необходима для дифференцировки стволовых клеток в эндотелиальном направлении [46]. В эксперименте с клеточными культурами показано, что уровни микроРНК-181a и -181b достигают пика в зрелых эмбриональных стволовых клетках человека, усиливая при этом экспрессию маркеров, специфичных для эндотелиальных стволовых клеток (PECAM-1 и VE-кадгерин). *In vivo* сверхэкспрессия микроРНК-181b усиливала ангиогенез в мышиной модели ишемии конечностей.

Ангиогенный эффект микроРНК-451 был обнаружен при изучении кровоснабжения опухолевых тканей. Было обнаружено, что в ткани остеосаркомы с усиленным кровоснабжением экспрессия микроРНК-451 ниже, чем в перитуморальных областях [47]. Авторы предположили, что в этом случае сверхэкспрессия данной микроРНК будет заметно подавлять ангиогенез в опухолевых тканях, тормозя тем самым рост и метастазирование опухолевых клеток. Однако в недавней работе, посвященной изучению мозгового кровотока на модели геморрагического инсульта, были получены данные о том, что ангиогенез в тканях, прилежащих к очагу кровоизлияния, тормозится только при ингибировании экспрессии микроРНК-451 [48]. Так, у нокаутных мышей с полным отсутствием в активности микроРНК-451 ангиогенез в перигематомной области был значительно более выражен, чем у мышей дикого типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В постнатальном онтогенезе регенерация эндотелия и образование новых кровеносных сосудов происходят из уже существующих элементов сосудистой системы, и этот процесс непрерывно протекает как в здоровом организме, так и при патологии. Физиологически сбалансированная регуляция ангиогенеза имеет решающее значение в период роста ребенка, играет важную роль при обновлении тканей у взрослого человека, а также необходима при трансплантации органов, купировании очагов хронического воспаления, подавлении аутоиммунных процессов. Наряду с хорошо известными механизмами цитокиновой регуляции ангиогенеза не менее значимыми являются механизмы, которые опосредуются межклеточными взаимодействиями. Т-лимфоциты способны оказывать большое влияние на ангиогенез, формируя клеточные ассоциации и продуцируя большое количество про- и антиангиогенных факторов, обеспечивая тем самым паракринную регуляцию пролиферации и миграции эндотелиальных клеток.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
The author declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Evans CE, Iruela-Arispe ML, Zhao YY.* Mechanisms of endothelial regeneration and vascular repair and their application to regenerative medicine. *Am J Pathol.* 2021; 191 (1): 52–65. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.10.001.
2. *Бабаева АГ, Геворкян НМ, Зотиков ЕА.* Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей. М.: РАМН, 2009; 108. *Babaeva AG, Gevorkyan NM, Zotikov EA*. Rol' limfocitov v operativnom izmenenii programmy razvitiâ tkanej. M.: RAMN, 2009; 108. [In Russ].
3. *D'Alessio FR, Kurzhagen JT, Rabb H.* Reparative T lymphocytes in organ injury. *J Clin Invest.* 2019; 129: 2608–2618. doi: 10.1172/JCI124614.
4. *Grassi F, Cattini L, Gambari L, Manferdini C, Piacentini A, Gabusi E et al.* T cell subsets differently regulate osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells *in vitro*. *J Tissue Eng Regen Med*. 2013; 10 (4): 305–314. doi: 10.1002/term.1727.
5. *Liu J, Ma Y, Tian S, Zhang L, Zhao M, Zhang Y, Xu D.* T cells promote the regeneration of neural precursor cells in the hippocampus of Alzheimer's disease mice. *Neural Regen Res.* 2014; 9 (16): 1541–1547. doi: 10.4103/1673-5374.139481.
6. *Kwee BJ, Budina E, Najibi AJ, Mooney DJ.* CD4 T-cells regulate angiogenesis and myogenesis. *Biomaterials.* 2018; 178: 109–121. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.06.003.
7. *Alcaide P.* Mechanisms Regulating T cell-endothelial cell interactions. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2022; 12 (7): a041170. doi: 10.1101/cshperspect.a041170.
8. *Vdovenko D, Balbi C, Di Silvestre D, Passignani G, Puspitasari YM, Zarak-Crnkovic M et al.* Microvesicles released from activated CD4(+) T cells alter microvascular endothelial cell function. *Eur J Clin Invest.* 2022; 52 (6): e13769. doi: 10.1111/eci.13769.
9. *Tamosiuniene R, Tian W, Dhillon G, Wang L, Sung YK, Gera L et al.* Regulatory T cells limit vascular endothelial injury and prevent pulmonary hypertension. *Circ Res.* 2011; 109 (8): 867–879. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.236927.
10. *Buckley DJ, Sharma S, Joseph B, Fayyaz AH, Canizales A, Terrebonne KJ, Trott DW.* Early life thymectomy induces arterial dysfunction in mice. *Geroscience.* 2024; 46 (1): 1035–1051.
11. *Deliyanti D, Figgett WA, Gebhardt T, Trapani JA, Mackay F, Wilkinson-Berka JL.* CD8(+) T cells promote pathological angiogenesis in ocular neovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2023; 43 (4): 522–536. doi: 10.1161/ATVBAHA.122.318079.
12. *Do Valle Duraes F, Lafont A, Beibel M, Martin K, Darribat K, Cuttat R et al.* Immune cell landscaping reveals a protective role for regulatory T cells during kidney injury and fibrosis. *JCI Insight.* 2020; 5 (3): e130651. doi: 10.1172/jci.insight.130651.
13. *Caldwell CC, Kojima H, Lukashev D, Armstrong J, Farber M, Apasov SG, Sitkovsky MV.* Differential effects of physiologically relevant hypoxic conditions on T lymphocyte development and effector functions. *J Immu-*

nol. 2001; 167 (11): 6140–6149. doi: 10.4049/jimmunol.167.11.6140.
14. *Lin Y, Tang Y, Wang F*. The Protective effect of HIF-1α in T lymphocytes on cardiac damage in diabetic mice. *Ann Clin Lab Sci.* 2016; 46 (1): 32–43.
15. *Yun H, Yee MB, Lathrop KL, Kinchington PR, Hendricks RL, St Leger AJ.* Production of the cytokine VEGF-A by CD4(+) T and myeloid cells disrupts the corneal nerve landscape and promotes herpes stromal keratitis. *Immunity*. 2020; 53 (5): 1050–1062.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.10.013.
16. *Schilbach K, Frommer K, Meier S, Handgretinger R, Eyrich M.* Immune response of human propagated gammadelta-T cells to neuroblastoma recommend the Vdelta1+ subset for gammadelta-T cell-based immunotherapy. *J Immunother.* 2008; 31: 896–905. doi: 10.1097/CJI.0b013e31818955ad.
17. *Certo M, Elkafrawy H, Pucino V, Cucchi D, Cheung KCP, Mauro C.* Endothelial cell and T-cell crosstalk: Targeting metabolism as a therapeutic approach in chronic inflammation. *Br J Pharmacol.* 2021; 178 (10): 2041–2059. doi: 10.1111/bph.15002.
18. *Jung J, Zeng H, Horng T.* Metabolism as a guiding force for immunity. *Nature Cell Biology*. 2019; 21 (1): 85–93. doi: 10.1038/s41556-018-0217-x.
19. *Loffredo LF, Savage TM, Ringham OR, Arpaia N.* Treg-tissue cell interactions in repair and regeneration. *J Exp Med.* 2024; 221 (6): e20231244. doi: 10.1084/jem.20231244.
20. *Qi Y, Operario DJ, Georas SN, Mosmann TR.* The acute environment, rather than T cell subset pre-commitment, regulates expression of the human T cell cytokine amphiregulin. *PLoS One.* 2012; 7 (6): e39072. doi: 10.1371/journal.pone.0039072.
21. *Liu J, Pan L, Hong W, Chen S, Bai P, Luo W et al.* GPR174 knockdown enhances blood flow recovery in hindlimb ischemia mice model by upregulating AREG expression. *Nat Commun.* 2022; 13: 7519. doi: 10.1038/s41467-022-35159-8.
22. *Leung OM, Li J, Li X, Chan VW, Yang KY, Ku M et al.* Regulatory T cells promote apelin-mediated sprouting angiogenesis in type 2 diabetes. *Cell Rep.* 2018; 24: 1610–1626. doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.019.
23. *Wang Y, Li J, Zhang Y, He P, Liu W, Zeng W et al.* AREG(+) regulatory T cells mediating myocardial repair and neovascularization after myocardial infarction. *Mol Med.* 2025; 31 (1): 229. doi: 10.1186/s10020-025-01281-8.
24. *Геворкян НМ, Тишевская НВ, Болотов АА.* Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после острого гамма-облучения. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2016; 161 (5): 670–673. *Gevorkyan NM, Tishevskaya NV, Bolotov AA.* Effect of preliminary administration of total RNA of bone marrow cells on the dynamics of erythropoiesis recovery in rats after acute gamma irradiation. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2016; 161 (5): 670–673. doi: 10.1007/s10517-016-3494-z. [In Russ. English abstract].
25. *Бабаева АГ, Геворкян НМ, Тишевская НВ, Комарова ИА.* Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки крыс на эритропоэз *in vitro*. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2014; 4 (12): 35–39. *Babaeva AG, Gevorkyan NM, Tishevskaya NV, Komarova IA.* Effects of preparations of total RNA from lymphoid cells of rat spleen on *in vitro* erythropoiesis. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2014; 4 (12): 35–39. [In Russ].
26. *Бабаева АГ, Геворкян НМ, Тишевская НВ, Комарова ИА.* Влияние препаратов суммарной РНК лимфоидных клеток селезенки на эритропоэз в культуре эритробластических островков крыс с полицитемией. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2014; 4 (12): 40–43. *Babaeva AG, Gevorkyan NM, Tishevskaya NV, Komarova IA.* Influence of preparations of total RNA from splenic lymphoid cells on erythropoiesis in the culture of erythroblastic islets from rats with polycythemia. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya.* 2014; 4 (12): 40–43. [In Russ].
27. *Тишевская НВ, Головнева ЕС, Тахавиев РВ.* Лимфоцитарная РНК стимулирует физиологическую регенерацию и микроциркуляцию в щитовидной железе. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2025; 27 (2): 163–170. *Tishevskaya NV, Golovneva ES, Takhaviev RV.* Lymphocytic RNA stimulates physiological regeneration and enhances microcirculation in the thyroid gland. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2025; 27 (2): 163–170. doi: 10.15825/1995-1191-2025-2-163-170.
28. *Shang R, Lee S, Senavirathne G, Lai EC.* MicroRNAs in action: biogenesis, function and regulation. *Nat Rev Genet.* 2023; 24 (12): 816–833. doi: 10.1038/s41576-023-00611-y.
29. *Ding M-H, Lozoya EG, Rico RN, Chew SA.* The role of angiogenesis-inducing microRNAs in vascular tissue engineering. *Tissue Eng Part A.* 2020; 26 (23–24): 1283–1302.
30. *Kuchen S, Resch W, Yamane A, Kuo N, Li Z, Chakraborty T et al.* Regulation of microRNA expression and abundance during lymphopoiesis. *Immunity.* 2010; 32 (6): 828–839. doi: 10.1016/j.immuni.2010.05.009.
31. *Grigoryev YA, Kurian SM, Hart T, Nakorchevsky AA, Chen C, Campbell D et al.* MicroRNA regulation of molecular networks mapped by global microRNA, mRNA, and protein expression in activated T lymphocytes. *J Immunol.* 2011; 187 (5): 2233–2243. doi: 10.4049/jimmunol.1101233.
32. *Smigielska-Czepiel K, van den Berg A, Jellema P, van der Lei RJ, Bijzet J, Kluiver J et al.* Comprehensive analysis of miRNA expression in T-cell subsets of rheumatoid arthritis patients reveals defined signatures of naive and memory Tregs. *Genes Immun*. 2014; 15 (2): 115–125. doi: 10.1038/gene.2013.69.
33. *Shin S, Jung I, Jung D, Kim CS, Kang SM, Ryu S et al.* Novel antitumor therapeutic strategy using CD4(+) T cell-derived extracellular vesicles. *Biomaterials.* 2022; 289: 121765. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121765.
34. *Teteloshvili N, Smigielska-Czepiel K, Kroesen BJ, Brouwer E, Kluiver J, Boots AM, van den Berg A.* T-cell ac-

tivation induces dynamic changes in miRNA expression patterns in CD4 and CD8 T-cell subsets. *Microrna.* 2015; 4 (2): 117–122. doi: 10.2174/2211536604666150819194636.

35. *Xiong B, Nie Y, Yu Y, Wang S, Zuo X.* Reduced miR-16 levels are associated with VEGF upregulation in high-risk myelodysplastic syndromes. *J Cancer.* 2021; 12 (7): 1967–1977. doi: 10.7150/jca.52455.
36. *Saadh MJ, Jasim NY, Ahmed MH, Ballal S, Kumar A, Atteri S et al.* Critical roles of miR-21 in promotions angiogenesis: friend or foe? *Clin Exp Med.* 2025; 25 (1): 66. doi: 10.1007/s10238-025-01600-7.
37. *Moriondo G, Soccio P, Minoves M, Scioscia G, Tondo P, Barbaro M et al.* Hypoxia mediates cancer development and progression through HIF-1a and microRNA regulation. *Arch Bronconeumol.* 2023; 59 (10): 629–637. doi: 10.1016/j.arbres.2023.07.001.
38. *Geng Z, Li Z, Cui Z, Wang J, Yang X, Liu C.* Novel bionic topography with MiR-21 coating for improving bone-implant integration through regulating cell adhesion and angiogenesis. *Nano Lett.* 2020; 20 (10): 7716–7721. doi: 10.1021/acs.nanolett.0c03240.
39. *Geng Z, Yu Y, Li Z, Ma L, Zhu S, Liang Y et al.* MiR-21 promotes osseointegration and mineralization through enhancing both osteogenic and osteoclastic expression. *Mater Sci Eng C.* 2020; 111: 110785. doi: 10.1016/j.msec.2020.110785.
40. *Ma S, Zhang A, Li X, Zhang S, Liu S, Zhao H.* MiR-21-5p regulates extracellular matrix degradation and angiogenesis in TMJOA by targeting Spry1. *Arthritis Res Ther.* 2020; 22: 1–17. doi: 10.1186/s13075-020-2145-y.
41. *Lian C, Zhao L, Qiu J, Wang Y, Chen R, Liu Z et al.* MiR-25-3p promotes endothelial cell angiogenesis in aging mice via TULA-2/SYK/VEGFR-2 downregulation. *Aging (Albany NY).* 2020; 12 (22): 22599–22613. doi: 10.18632/aging.103834.
42. *McCoy MG, Jamaiyar A, Sausen G, Cheng HS, Perez-Cremades D, Zhuang R et al.* MicroRNA-375 repression of Kruppel-like factor 5 improves angiogenesis in diabetic critical limb ischemia. *Angiogenesis.* 2023; 26 (1): 107–127. doi: 10.1007/s10456-022-09856-3.
43. *Tsitsiou E, Lindsay MA.* microRNAs and the immune response. *Curr Opin Pharmacol.* 2009; 9: 514–520. doi: 10.1016/j.coph.2009.05.003.
44. *Du X, Hu N, Yu H, Hong L, Ran F, Huang D et al.* MiR-150 regulates endothelial progenitor cell differentiation via Akt and promotes thrombus resolution. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11 (1): 354. doi: 10.1186/s13287-020-01871-9.
45. *Dong Y, Alonso F, Jahjah T, Fremaux I, Grosset CF, Genot E.* miR-155 regulates physiological angiogenesis but an miR-155-rich microenvironment disrupts the process by promoting unproductive endothelial sprouting. *Cell Mol Life Sci.* 2022; 79 (4): 208. doi: 10.1007/s00018-022-04231-3.
46. *Kane NM, Howard L, Descamps B, Meloni M, McClure J, Lu R et al.* Role of MicroRNAs 99b, 181a, and 181b in the differentiation of human embryonic stem cells to vascular endothelial cells. *Stem Cells*. 2012; 30: 643–654. doi: 10.1002/stem.1026.
47. *Liu SY, Deng SY, He YB, Ni GX.* MiR-451 inhibits cell growth, migration and angiogenesis in human osteosarcoma via down-regulating IL 6R. *Biochem Bioph Res Co.* 2017; 482 (4): 987–993. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.145.
48. *Bai S, Zhang G, Chen S, Wu X, Li J, Wang J et al.* MicroRNA-451 regulates angiogenesis in intracerebral hemorrhage by targeting macrophage migration inhibitory factor. *Mol Neurobiol.* 2024; 61 (12): 10481–10499. doi: 10.1007/s12035-024-04207-3.

Статья поступила в редакцию 30.07.2025 г.
The article was submitted to the journal on 30.07.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-104-116

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОПОЛИМЕРНОГО ГОМОГЕННОГО МНОГОКОМПОНЕНТНОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО МИМЕТИКА ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Р.Р. Абсалямова[1], Н.В. Перова[1, 2], Е.В. Арзуманянц[2], С.В. Курсаков[2], А.П. Малкова[2], А.С. Пономарева[3], В.И. Севастьянов[2, 3]

[1] АО «БИОМИР сервис», Краснознаменск, Московская область, Российская Федерация
[2] АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Российская Федерация
[3] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

На сегодняшний день разработка адгезивных ранозаживляющих покрытий с регенераторными свойствами для восстановления целостности поврежденных кожных покровов и слизистых оболочек относится к одному из приоритетных направлений. **Цель:** разработать гомогенный биополимерный многокомпонентный коллагенсодержащий гидрогель с адгезивными свойствами ($БМКГ_{адг.}$) и оценить его безопасность и эффективность. **Материалы и методы.** Исследовали стерильные образцы $БМКГ_{адг.}$ Определяли содержание летучих органических соединений (ЛОС) на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). Измерение осмоляльности $БМКГ_{адг}$ проводили с использованием анализатора жидкости «Osmometer K-7400» (Knauer, Германия). Величину pH определяли pH-метром pH-150МИ (ООО «Измерительная техника», Россия). Биологическая безопасность включала оценку цитотоксичности, пирогенности, опосредованной материалом, общетоксического (острая и субхроническая токсичность), сенсибилизирующего и раздражающего действия согласно ГОСТ ISO 10993. Цитотоксичность образцов *in vitro* определяли на культуре фибробластов мыши линии NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™). Эффективность $БМКГ_{адг}$ исследовали на модели термического ожога крыс. Проводили гистологические исследования ткани сердца, легких, тимуса, печени, селезенки, почки, надпочечника, гонад и коры головного мозга. **Результаты.** Содержание ЛОС не превышало допустимых значений. Осмоляльность составила 334 ± 20 мОсм/кг, pH – 7,18 ± 0,11 ед. pH. *In vitro* доказано отсутствие цитотоксичности. Исследование острой токсичности показало отсутствие токсического действия на организм лабораторных животных. Результаты субхронической токсичности показали, что воздействие $БМКГ_{адг}$ не приводит к интоксикации и гибели лабораторных животных. Ни у одного животного не было выявлено реакции гиперчувствительности замедленного типа, что говорит об отсутствии сенсибилизирующего действия. При внутрикожном введении $БМКГ_{адг}$ и его аппликации на слизистые оболочки стенки защечного мешка хомячка, вагины и прямой кишки кролика ответная реакция отсутствовала, индекс раздражения равен 0. При внутривенном введении кроликам экстракта из образцов $БМКГ_{адг}$ индивидуальное повышение температуры у всех трех кроликов не превышало 0,1 °C. Биомиметик $БМКГ_{адг}$ не вызывает пирогенного ответа. **Заключение.** На модели термического ожога показано, что нанесение адгезивного миметика внеклеточного матрикса (ВКМ) на пораженные участки кожи сразу после формирования ожога и ежесуточно до полного заживления ран на 15,3 ± 7,7% ускоряет заживление раны после ожоговой травмы у опытной группы (34,9 сут) по сравнению с ранами животных контрольной группы (40,2 сут) с надежностью $p < 0,01$; способствует формированию полноценного эпителиального пласта; ускоряет восстановление исходной гистоструктуры поврежденной кожи. Полученные положительные результаты позволяют перейти к проведению исследований эффективности $БМКГ_{адг}$ на экспериментальных моделях поврежденных слизистых оболочек.

Ключевые слова: миметик внеклеточного матрикса, биополимерный многокомпонентный коллагенсодержащий гидрогель с адгезивными свойствами, ранозаживляющее покрытие, биологическая безопасность, эффективность.

Для корреспонденции: Абсалямова Регина Рауфовна. Адрес: 123557, Москва, Большой Тишинский переулок, д. 43/20, стр. 2. Тел. (909) 973-08-17. E-mail: regina-imbiit@mail.ru

Corresponding author: Regina Absalyamova. Address: 43/20, building 2, Bolshoy Tishinskiy Pereulok, Moscow, 123557, Russian Federation.
Phone: (909) 973-08-17. E-mail: regina-imbiit@mail.ru

BIOLOGICAL SAFETY AND THERAPEUTIC EFFICACY OF A BIOPOLYMER-BASED MULTICOMPONENT HYDROGEL MIMICKING THE EXTRACELLULAR MATRIX

R.R. Absalyamova[1], N.V. Perova[1, 2], E.V. Arzumanyants[2], S.V. Kursakov[2], A.P. Malkova[2], A.S. Ponomareva[3], V.I. Sevastianov[2, 3]

[1] Biomir Service, Krasnoznamensk, Moscow Oblast, Russian Federation
[2] Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow, Russian Federation
[3] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

Background. The development of adhesive wound dressings with regenerative properties for restoring the integrity of damaged skin and mucous membranes is currently a priority area in regenerative medicine and tissue engineering. **Objective:** to develop a homogeneous, multicomponent collagen-based biopolymer adhesive hydrogel (MCBAH) and to evaluate its safety and efficacy. **Materials and methods.** Sterile samples of MCBAH were analyzed. The content of volatile organic compounds (VOCs) was determined using a Chromatec-Crystal 5000 gas chromatograph (Chromatec SKB CJSC, Russia). Osmolarity was measured using the Osmometer K-7400 liquid analyzer (Knauer, Germany), and pH was determined with the pH-150MI pH meter (Izmeritel'naya Tekhnika LLC, Russia). Biological safety was assessed in accordance with GOST ISO 10993 and included evaluation of cytotoxicity, pyrogenicity, material-mediated effects, general toxicity (acute and subchronic), as well as sensitizing and irritant effects. *In vitro* cytotoxicity was assessed using cultures of NIH/3T3 fibroblasts (ATCC® CRL-1658™). The efficacy of MCBAH was evaluated in a rat thermal burn model. Histological examinations were performed on tissues from the heart, lungs, thymus, liver, spleen, kidneys, adrenal glands, gonads, and cerebral cortex. **Results.** VOCs concentrations did not exceed permissible limits. Osmolarity was 334 ± 20 mOsm/kg, and pH was 7.18 ± 0.11. *In vitro* studies demonstrated the absence of cytotoxicity. Acute toxicity testing revealed no toxic effects in laboratory animals. Similarly, subchronic toxicity studies showed that exposure to MCBAH did not cause intoxication or mortality. No delayed-type hypersensitivity reactions were observed, indicating the absence of a sensitizing effect. Intradermal administration of MCBAH and its application to the mucous membranes of the hamster cheek pouch, rabbit vagina, and rabbit rectum produced no detectable response, with an irritation index of 0. Following intravenous administration of extracts from MCBAH samples to rabbits, increase in body temperature in all three animals did not exceed 0.1 °C, indicating that the biomimetic hydrogel does not induce a pyrogenic response. **Conclusion.** In a rat thermal burn model, application of an adhesive biomimetic hydrogel mimicking the extracellular matrix (ECM) immediately after burn induction and daily until complete wound closure significantly accelerated wound healing in the experimental group by 15.3 ± 7.7% (34.9 days) compared with the control group (40.2 days, $p < 0.01$). Treatment also promoted the formation of a fully developed epithelial layer and accelerated restoration of the original histological structure of the damaged skin. These findings support further investigation of the efficacy of this hydrogel in experimental models of damaged mucous membranes.

Keywords: extracellular matrix mimetic, biocompatible multicomponent collagen-containing adhesive hydrogel, wound-healing coating, biological safety, therapeutic efficacy.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день разработка адгезивных ранозаживляющих покрытий с регенераторными свойствами для восстановления целостности поврежденных кожных покровов и слизистых оболочек относится к одному из приоритетных направлений при лечении заболеваний ротовой полости, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы различного генеза. Это связано как с многофакторностью внешних и внутренних факторов, приводящих к повреждениям слизистых оболочек, так и с многоэтапным и до конца не изученным механизмом их физиологической регенерации. В последние годы наметилась тенденция применения в травматологии и ортопедии, урологии, нейрохирургии, офтальмологии и др. биополимерных гидрогелей, содержащих биологически активные компоненты ВКМ, так называемых миметиков ВКМ [1], которые помимо высокой степени биосовместимости являются эффективными биостимуляторами для регенерации поврежденных тканей.

Наиболее часто используемыми биополимерными гидрогелевыми миметиками ВКМ являются такие его компоненты, как коллаген, фибрин, эластин, гиалуроновая кислота и хондроитин-4-сульфат в виде несшитых или сшитых (структурированных) однокомпонентных, композитных и гибридных гидро-

гелей в различных формах (пленки, губки, нано-, микро- и макрокапсулы и другие) [2–4].

С учетом многофункциональности ВКМ можно предположить, что перспективным является создание многокомпонентного биополимерного гидрогеля, наличие в котором разного класса биоактивных компонентов позволит эффективно влиять на различные звенья регенеративного процесса: от адгезии, пролиферации и дифференцировки клеток до формирования полноценных тканевых структур.

К таким многокомпонентным гидрогелям относится Matrigel™ (Corning, США), полученный из экстрактов опухолей мышей Engelbreth–Holm–Swarm в виде смеси желатиновых белков [5]. Основные компоненты Matrigel™ включают примерно 60% ламинина, 30% коллагена и 8% энтактина. Он также содержит другие компоненты базальной мембраны, такие как факторы роста и остаточные матриксные металлопротеиназы. Matrigel™ широко используется многими исследователями в качестве биомиметика ВКМ при культивировании 2D- и 3D-клеточных структур как для оценки ангиогенеза и клеточной дифференцировки, так и для создания тканеинженерных структур. Хотя состав и биологические свойства многокомпонентного Matrigel™ достаточно хорошо изучены, но в связи с тем что он получен из экстракта опухолевых клеток, его применение в клинической практике маловероятно.

С точки зрения клинического применения наиболее привлекательными являются гидрогели, в состав которых входят биологически активные компоненты ВКМ тканей животных, например многокомпонентные коллагенсодержащие гидрогели, полученные в результате экстракции мягких тканей животных уксусной кислотой [1, 6]. В ряде случаев многокомпонентные миметики ВКМ представляют собой гетерогенные гидрогели, состоящие из коллагенсодержащего экстракта с диспергированными в нем эластичными микрочастицами коллагена, полученными ультрадиспергированием коллагенового раствора с последующей радиационной сшивкой. В качестве сырья для коллагенсодержащего экстракта в основном используются ткани здоровых цыплят в возрасте 5–8 дней, а коллаген I типа получают при щелочно-солевой обработке склер свиней [7].

Многокомпонентные коллагенсодержащие ВКМ-гидрогели относятся к классу γ-сшитых биополимерных имплантатов с широким молекулярно-массовым распределением и размером диффузионных пор 100–300 мкм, содержанием связанной воды не менее 32,8 ± 0,5 мас.% и водопоглощением 86,6 ± 3,0 мас.% [8]. Дифференциальная сканирующая калориметрия показала, что коллагенсодержащий экстракт представляет собой высоковязкий коллоидный раствор с фазовым переходом второго порядка и средней температурой плавления +45 °С и энтальпией плавления 42,4 Дж/г. После γ-стерилизации (15 кГр), выполняющей функцию сшивающего агента, образуется коллагенсодержащий гидрогель с фазовым переходом первого порядка, характеризующимся температурой плавления +68 °С и энтальпией плавления 416,7 Дж/г.

Результаты экспериментально-клинического применения биополимерных многокомпонентных коллагенсодержащих гидрогелей (БМКГ) продемонстрировали их способность стимулировать внутреннюю (собственную) регенерацию поврежденных мягких тканей [1, 9]. В частности, были получены положительные результаты интравагинального инъекционного субмукозного мультипунктурного введения гетерогенных БМКГ при локальной коллагенотерапии пациенток с генитоуринарным менопаузальным синдромом [10]. Это дало основание предположить принципиальную возможность применения гидрогелевых миметиков ВКМ для восстановления морфофункциональных свойств поврежденных слизистых оболочек внутренних органов за счет своей способности поддерживать пролиферацию и дифференцировку мезенхимных стволовых клеток, мигрирующих в область повреждения. К основному недостатку используемого в работе [10] гетерогенного БМКГ относится отсутствие адгезивных свойств, что не дает возможности формировать из него устойчивое покрытие на поврежденной коже или слизистых оболочках и тем самым перейти от малоинвазивного инъекционного способа введения к неинвазивному. Наиболее эффективны адгезивные гидрогелевые миметики ВКМ могут быть при комплексном лечении и стимуляции физиологической регенерации обширных поверхностных ран различной этиологии (термические ожоги, последствия огнестрельных и минно-взрывных ранений, в т. ч. при кожной пластике, трофические язвы, пролежни) и слизистых оболочек (например, таких заболеваний желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы, как острый и хронический язвенный колит, цистит, уретрит, вагинит, эндометрит) [11, 12].

Это и стимулировало разработку гомогенного БМКГ с адгезивными свойствами ($БМКГ_{адг}$) с последующей оценкой его безопасности и эффективности, что и явилось целью данной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были стерильные экспериментальные образцы сшитого гамма-облучением $БМКГ_{адг}$ в форме спрея (рис. 1). Конечный продукт $БМКГ_{адг}$ представляет собой слегка вязкий раствор без запаха, произведенный АО «БИОМИР сервис» (г. Краснознаменск, Московская область) из экстракта коллагенсодержащих тканей птиц методом уксуснокислого гидролиза (ТУ 9389-008-54969743-2016) с добавлением в экстракт гидроксиметилцеллюлозы



Рис. 1. Экспериментальный стерильный образец $БМКГ_{адг}$ в форме спрея

Fig. 1. Experimental sterile sample of the biopolymer hydrogel in spray form

и низкомолекулярного полиэтиленгликоля. Многокомпонентный гомогенный гидрогелевый миметик $БМКГ_{адг}$ содержит основные компоненты ВКМ: гликопротеины – частично гидролизованные коллагены I, II, III и IV типов (75–80%) – и протеогликаны, преимущественно высокомолекулярные и низкомолекулярные фракции гиалуроновой кислоты, и обладает хорошей адгезией к мягким тканям и слизистым оболочкам. Характеристические параметры $БМКГ_{адг}$: концентрация (сухой остаток) – 3,00 ± 0,12 мг/мл (0,3%), вязкость – 9,57 ± 0,10 мПа·с, плотность – 0,88 ± 0,02 г/см^3, осмоляльность – 334 ± 20 мОсм/кг, pH – 7,18 ± 0,11 ед. pH.

Методы

Для подтверждения безопасности $БМКГ_{адг}$ определяли такие санитарно-химические и физико-химические показатели, как содержание в гидрогеле летучих органических соединений (ЛОС) ацетальдегида, ацетона, изопропанола, метанола, н-пропанола, его осмоляльность и pH [13].

Измерение концентрации ацетальдегида, ацетона, изопропанола, метанола, н-пропанола проводили с использованием газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «ХРОМАТЭК», Россия). Измерение основано на извлечении ЛОС из пробы одноразовой газовой экстракцией при нагревании в замкнутом объеме и последующем анализе равновесной паровой фазы на двух параллельных капиллярных колонках, включающем идентификацию веществ по их временам удерживания и количественное определение методом абсолютной градуировки с помощью пламенно-ионизационных детекторов (ПИД). Разделение компонентов проводили на капиллярных колонках TRB-WAX (длина – 60 м, внутренний диаметр – 0,53 мм, толщина слоя неподвижной фазы – 1,0 мкм, канал – ПИД-1) и TRB-624 (длина – 60 м; внутренний диаметр – 0,53 мм, толщина слоя – 3,0 мкм, канал – ПИД-2).

Измерение осмоляльности $БМКГ_{адг}$ выполняли криоскопическим методом с использованием анализатора жидкости «Osmometer K-7400» (Knauer, Германия). Величину pH определяли потенциометрическим методом с использованием pH-метр pH-150МИ (ООО «Измерительная техника», Россия). Вязкость определяли вибровискозиметром SV-10 (A&D Company, Япония), плотность – с использованием пикнометров.

Исследование безопасности биологическими методами, рекомендованными стандартом ГОСТ ISO 10993-1-2021 [14] для медицинских изделий (МИ), предназначенных для кратковременного контакта с тканями организма, включало оценку цитотоксичности, пирогенности, опосредованной материалом, общетоксического (острая и субхроническая токсичность), сенсибилизирующего и раздражающего действия.

Для отбора и распределения животных по группам применялся метод случайной выборки, с учетом массы тела. Животные находились на карантине в течение 10 суток, за их состоянием вели ежедневное наблюдение. Животных кормили комбинированными кормами ПК 121 (для крыс, мышей и хомяков) и ПК 122 (для морских свинок и кроликов). Корм давали без ограничения. Животных лишали корма на ночь перед взвешиванием, взятием крови и эвтаназией. Доступ к воде не ограничивали. Эвтаназию осуществляли методом ингаляции двуокиси углерода (CO_2) и методом декапитации с предварительной анестезией. Некропсию проводили сразу после гибели животных по полной патологоанатомической схеме. После эвтаназии и произведенных процедур трупы животных утилизированы в ООО «Экотехнологии».

Все манипуляции с лабораторными животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях ETS No. 123 (Strasbourg, 1986), и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. При планировании исследования была учтена концепция гуманного использования

лабораторных животных в экспериментах – Концепция трех R.

Работа была одобрена локальным этическим комитетом АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», Москва, Россия (31 мая 2024 г., протокол заседания БЭК № 4/2024).

Цитотоксичность образцов *in vitro* определяли на культуре фибробластов мыши линии NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™) из коллекции ATCC (American Type Culture Collection) методом прямого контакта [15]. В качестве отрицательного контрольного образца для демонстрации фоновой реакции клеток использовали питательную среду DMEM (Dulbecco's modified Eagles medium) с высоким содержанием глюкозы 4,5 г/л (ПанЭко, Россия). В качестве положительного контрольного образца для демонстрации соответствующей реакции тест-системы применяли стандарт цинка одноэлементный водный 10 000 мкг/мл (Sigma-Aldrich, США). Все процедуры проводили в асептических условиях.

Качественная визуальная оценка цитотоксичности исследуемых образцов включала микроскопическое исследование для выявления изменений общей морфологии клеток, вакуолизацию, расщепление, лизис и целостность мембран с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Япония). Анализ результатов исследования проводили согласно оценочной шкале степени ответной реакции клеток после непосредственного контакта с образцами. Отрицательный контроль должен соответствовать степени реакции 0, положительный контроль – 4. Степень ответной реакции исследуемого образца должна соответствовать степени реакции 0.

Дополнительно для визуализации живых (зеленое свечение) и мертвых (красное свечение) клеток NIH/3T3 было проведено их окрашивание флуоресцентным витальным красителем LIVE/DEAD® Cell Viability/Cytotoxicity Kit (Molecular probes® by Life technologies™, США) согласно протоколу, рекомендуемому производителем.

Острую токсичность исследовали на аутбредных мышах, по 10 животных каждого пола в опытной и контрольной группах, введением внутрибрюшинно 1,0 мл образцов БМКГ$_{адг}$ и физиологического раствора соответственно [16].

Через 72 часа после начала эксперимента животных выводили из эксперимента путем ингаляции двуокисью углерода (CO_2) с дальнейшим обескровливанием и макроскопическим и морфометрическим исследованием органов.

Перечень органов, подлежавших макроскопическому исследованию: лимфатические узлы, аорта, сердце, гортань, трахея, легкие, тимус, пищевод, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, печень с желчным пузырем, поджелудочная железа, селезенка, почки, надпочечники, мочевой пузырь, семенники, яичники, матка, влагалище, подчелюстная слюнная железа с лимфатическими узлами, щитовидная железа, головной мозг.

Перечень органов, подлежавших взвешиванию: сердце, легкие, тимус, печень, селезенка, почки, надпочечники, гонады, головной мозг.

Для оценки с*убхронической токсичности* [16] образцы БМКГ$_{адг}$ и физиологического раствора наносили накожно половозрелым аутбредным крысам (самцам) опытной и контрольной групп (по 20 животных в каждой) в объеме 0,2 мл с последующим втиранием в кожу стеклянной палочкой. Процедуру проводили 1 раз в день на протяжении 28 суток.

На 29-е сутки эксперимента у животных забирали кровь для клинического (гематологический анализатор Mindray BC-2800-vet (Mindray, Китай) и биохимического (биохимический фотометр «Стат факс 4500+» (фирма Awareness Technology Inc., США) исследований и мочу (экспресс-анализатор LAURA Smart, «Erba Lachema s.r.o.», Чехия).

После плановой эвтаназии методом декапитации с предварительной анестезией забирали для получения окрашенных гематоксилин-эозином гистологических препаратов сердце, легкое, тимус, печень, селезенку, почку, надпочечник, гонады, головной мозг.

Для исследования *сенсибилизирующего воздействия* использовали максимизационный адъювантный тест на морских свинках-альбиносах (по 15 животных в опытной и контрольной группах) [17]. Кожную реакцию оценивали через 24 и 48 ч после нанесения разрешающей дозы БМКГ$_{адг}$ и физиологического раствора по балльной шкале Магнуссона–Клигмана.

Раздражающее действие БМКГ$_{адг}$ на кожу и слизистые оболочки оценивали соответствующими методами [18] при внутрикожном введении (кролики-альбиносы, 15 шт.) и при аппликации на слизистую ротовой полости (хомячки сирийские, 3 шт.), вагины и прямой кишки (кролики-альбиносы, самки, по 3 животных в опытной и контрольной группах для каждой слизистой оболочки). Отмечали состояние мест инъекции сразу после введения, а также через 24, 48 и 72 часа после инъекции. Оценивали степень тканевой реакции, включая эритему и отек для каждого места инъекции и каждого времени наблюдения.

При исследовании пирогенности, опосредованной материалом [19], животным (кролики породы Советская шиншилла) с исходной ректальной температурой (38,5–39,5) °C в краевую вену уха вводили стерильный экстракт из БМКГ$_{адг}$, приготовленный на 0,9% NaCl, в объеме 0,2 мл на 1 кг массы тела кролика. Температуру измеряли ректально дважды с интервалом 30 минут до введения и через каждые 30 минут после введения в течение 3 часов. За исходную величину принимают величину последнего результата измерения. Определяли максимальное изменение температуры тела (Δt) каждого кролика по

сравнению с исходным значением, сумму индивидуальных максимальных повышений температуры для трех кроликов (Σ Δt). Изделие считается апирогенным, если полученный результат меньше или равен 1,2 °С, а индивидуальное повышение температуры ни у одного из трех кроликов не превышает 0,5 °С.

Исследование эффективности БМКГ$_{адг}$ на модели термического ожога проводили на 20 самках аутбредных крыс. Самки не были беременными или рожавшими (источник получения: Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА, Россия). Были сформированы 2 группы животных по 10 голов в группе: опытная группа (с применением БМКГ$_{адг}$) и контрольная (без лечения).

Создание экспериментального термического ожога

Всех животных анестезировали внутримышечным введением препарата «Телазол». Затем на дорсальной стороне тела крыс удаляли шерсть. Для предотвращения перегрева органов крысам в месте формирования ожога подкожно вводили 10 мл воздуха. Термический ожог IIIA степени вызывали с помощью электрического паяльника с напаянной медной пластиной площадью 3 см^2. После нагрева медной пластины до 200 °С ее накладывали (прижатием собственной массы) на подготовленную область спины на 10 секунд. Температура пластины непосредственно в момент ожога контролировалась термодатчиком.

Всем опытным животным БМКГ$_{адг}$ наносили на пораженные участки сразу после формирования ожога и ежесуточно до полного заживления ран в объеме 0,2 мл. Контрольные животные находились без лечения. Эффективность БМКГ$_{адг}$ оценивали в соответствии со следующими критериями: интенсивность и сроки местной воспалительной реакции; сроки отторжения ожогового струпа (сутки начала и окончания отторжения); сроки заживления ран; площадь ожоговых ран; скорость эпителизации ран; определение индекса ускорения (ИУ) заживления ран опытной группы относительно контрольной группы (%); выраженность морфологических изменений в области ран.

ИУ заживления ран опытных групп относительно контрольных (%) вычисляли по формуле:

$$ИУ = [(T_о – T_к)/T_о \times 100\%], \quad (1)$$

где $T_к$ – среднее время (сутки) полного заживления ран в контрольной группе; $T_о$ – среднее время (сутки) полного заживления ран в опытной группе.

Гистологическое окрашивание гематоксилин-эозином проводили стандартным способом с последующим исследованием на световом микроскопе Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия) морфологических изменений кожи в зоне ожоговой раны, толщины эпидермиса и дермы, ширины дефекта.

Статистический анализ данных

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010. Вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m). В случае нормального распределения выборки применяли параметрический тест t-критерия Стьюдента. При значительных отклонениях распределения признака от нормального закона применяли непараметрический метод U-критерий Манна–Уитни. Достоверным считали различие данных групп при $p < 0,05$.

Проверка приемлемости результатов параллельных определений и расчет результатов санитарно-химических испытаний выполнены с использованием программы внутрилабораторного контроля качества QControl.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Санитарно-химические и физико-химические показатели

Хроматограммы образца БМКГ$_{адг}$, полученные на двух параллельных каналах ПИД-1 и ПИД-2, представлены на рис. 2.

Отсутствие на хроматограммах пиков со временем удерживания определяемых аналитов свидетельствует о том, что их содержание в образце не превышает предела обнаружения методики (0,05 мг/дм^3) и допустимых значений, установленных в ГОСТ Р 52770–2023 (0,10 мг/дм^3 для ацетона, изопропанола, н-пропанола, 0,20 мг/дм^3 для ацетальдегида и метанола) [13].

Значения осмоляльности и pH составили 334 ± 20 мОсм/кг и 7,18 ± 0,11 ед. pH соответственно и находятся в диапазоне физиологических значений соответствующих параметров для биологических сред.

Результаты биологических испытаний *in vitro*

Цитотоксичность

В лунках с отрицательным контролем наблюдали отсутствие цитотоксического действия (степень реакции 0) – сформировавшийся субконфлюэнтный клеточный монослой, жизнеспособные клетки были морфологически однородны, преимущественно веретеновидной формы (рис. 3, а, б). Положительный контрольный образец продемонстрировал значительное цитотоксическое действие, что отвечает наибольшей степени реакции 4, которое выражалось в измененной морфологии фибробластов и отсутствии клеточного монослоя, при этом наблюдали не более 30% жизнеспособных клеток (рис. 3, в, г).

После контакта клеточной культуры с исследуемыми образцами (рис. 3, д, е). наблюдали сравнимое с отрицательным контролем (рис. 3, а, б) количество жизнеспособных распластанных фибробластов без изменения клеточной морфологии, что соответствует степени реакции 0 и свидетельствует об отсутствии цитотоксического действия исследуемых образцов на культуру фибробластов мыши линии NIH/3T3.

Результаты экспериментов *in vivo*

Для оценки биологического действия многокомпонентного биополимерного коллагенсодержащего гидрогеля был проведен комплекс исследований на лабораторных животных:

– общетоксическое действие (острая и субхроническая токсичность);
– сенсибилизирующее действие;
– раздражающее действие (внутрикожное, слизистые оболочки ротовой полости, вагины, прямой кишки);
– пирогенность, опосредованная материалом.

Проведенное исследование острой токсичности на аутбредных мышах показало, что внутрибрюшинное введение БМКГ$_{адг}$ не оказывает токсического действия на организм лабораторных животных. Масса тела мышей на протяжении эксперимента имела положительную динамику и значимо не отличалась между группами.

При макроскопическом исследовании отчетливого влияния БМКГ$_{адг}$ на состояние внутренних органов мышей не установлено, различий между контрольными и опытными группами не обнаружено.

При статистической обработке относительной массы внутренних органов было выявлено достоверное увеличение массы печени ($p < 0,05$) как у самцов (5,37 ± 0,17 г), так и у самок (4,52 ± 0,14 г) опытной группы по сравнению с контрольными (4,57 ± 0,15 и 3,82 ± 0,12 г соответственно), что не является критичным при оценке безопасности. По остальным показателям значимых различий между группами не обнаружено.

Проведенное исследование острой токсичности на аутбредных мышах показало, что внутрибрюшинное введение БМКГ$_{адг}$ не оказывает токсического действия на организм лабораторных животных.

В экспериментах по субхронической токсичности не было выявлено отрицательного влияния БМКГ$_{адг}$ на гемопоэз, активность ферментов, показателей углеводного, липидного и белкового обмена, а также на биохимические показатели мочи. Глюкоза, билирубин, уробилиноген, нитриты, кетоновые тела и лейкоциты в моче животных отсутствовали или находились ниже отметки первого значения, определяемого прибором как положительный. Статистически значимой разницы ($p < 0,05$) по изучаемым показателям между контрольной и опытной группами в сыворотке крови и мочи животных не установлено.

При макроскопическом исследовании биологического действия БМКГ$_{адг}$ на состояние внутренних органов крыс не установлено, различий между контрольной и опытной группами не обнаружено. Статистической разницы ($p < 0,05$) в относительной массе органов между контрольной и опытной группами не установлено.

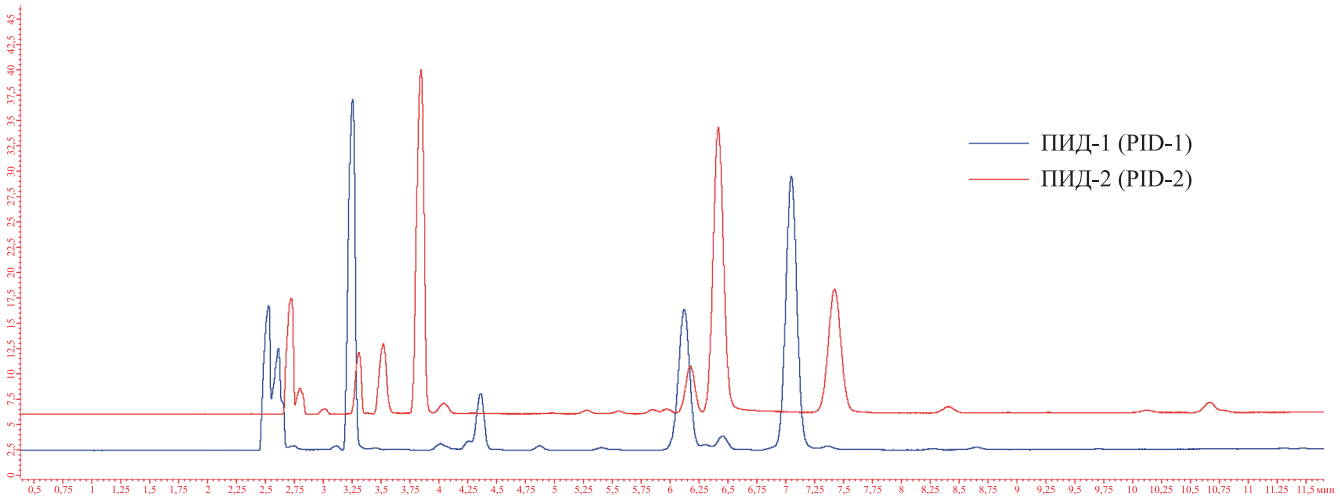


Рис. 2. Хроматограммы образца БМКГ$_{адг}$, полученные на параллельных каналах ПИД-1 (капиллярная колонка TRB-WAX длиной 60 м, внутренним диаметром 0,53 мм, толщиной слоя неподвижной фазы 1,0 мкм) и ПИД-2 (капиллярная колонка TRB-624 длиной 60 м, внутренним диаметром 0,53 мм, толщиной слоя 3,0 мкм)

Fig. 2. Chromatograms of the hydrogel sample obtained from parallel channels of a gas chromatograph: PID-1 (TRB-WAX capillary column, 60 m length, 0.53 mm internal diameter, stationary phase thickness 1.0 μm) and PID-2 (TRB-624 capillary column, 60 m length, 0.53 mm internal diameter, stationary phase thickness 3.0 μm)

Гистологическая картины ткани сердца, легких, тимуса, печени, селезенки, почки, надпочечника, гонад и коры головного мозга идентична в группах контрольных и опытных животных. БМКГ$_{адг}$ не вызывает изменения внутренних органов крыс, что наглядно видно при сравнительном гистологическом анализе

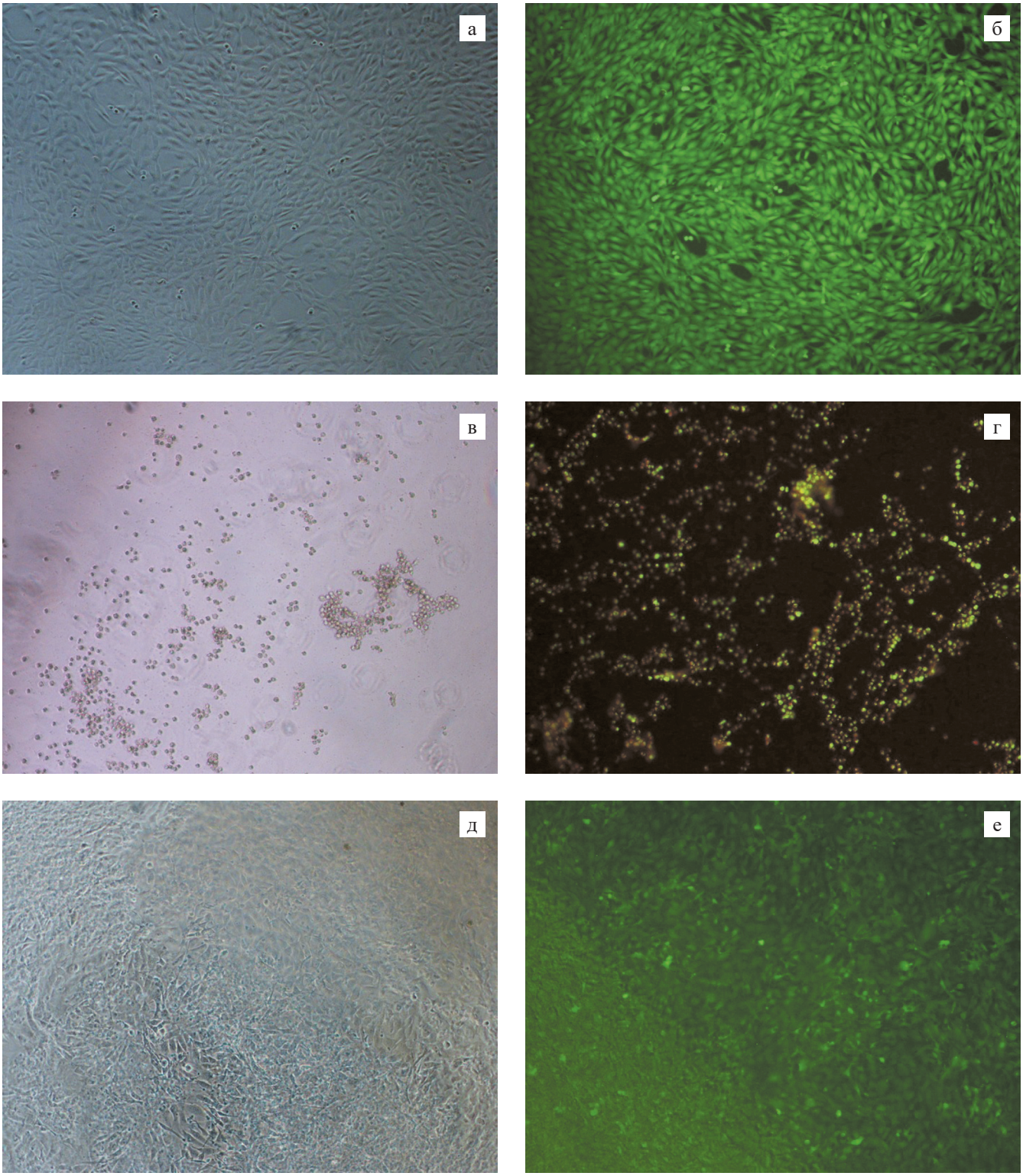


Рис. 3. Культура фибробластов мыши линии NIH/3T3 после контакта с отрицательным контрольным образцом – K^- (а, б), положительным контрольным образцом K^+ (в, г) и исследуемым образцом БМКГ$_{адг}$ (д, е); а, в, д – фазово-контрастная микроскопия; б, г, е – флуоресцентное окрашивание Live/Dead® Viability/Cytotoxicity Kit. ×100

Fig. 3. Culture of NIH/3T3 fibroblasts after exposure to the negative control (K^-) (а, б), the positive control (K^+) (в, г), and the test sample of the hydrogel (д, е); а, в, д – phase-contrast microscopy; б, г, е – fluorescent staining using the Live/Dead Viability/Cytotoxicity Kit. Magnification ×100

ткани печени крыс опытной (рис. 4, а) и контрольной (рис. 4, б) группы. У всех животных дольчатое строение печени хорошо выражено. Гепатоциты с крупными, хорошо окрашенными базофильными ядрами, границы отчетливые, цитоплазма зернистая, слабо оксифильная. Очаговых нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы нет. Цитоплазма большинства гепатоцитов содержит вакуоли различных размеров. Ядра содержат четкие ядрышки и достаточное количество хроматина.

Результаты субхронической токсичности показали, что воздействие БМКГ$_{адг}$ не приводит к интоксикации и гибели лабораторных животных. Не установлено отрицательного действия БМКГ$_{адг}$ на поведение и массу тела крыс, показатели клинического и биохимического анализов, анализа мочи.

Сенсибилизирующее и раздражающее действие

Ни у одного животного не было выявлено реакции гиперчувствительности замедленного типа, что говорит об отсутствии сенсибилизирующего действия.

При внутрикожном введении БМКГ$_{адг}$ и его аппликации на слизистую оболочку стенки защечного мешка хомячка, вагины и прямой кишки кролика ответная реакция отсутствовала, индекс раздражения равен 0 [18].

В качестве примера на рис. 5 приведена микроскопия стенки защечного мешка хомячка, представляющая собой многослойный ороговевающий эпителий. Гистологическая картина идентична в группах контрольных и опытных. Стенка защечного мешка хомяка образована слизистой, соединительно-тканной и мышечной оболочками.

Пирогенность

Изделие считается апирогенным, если полученный результат меньше или равен 1,2 °С, а индивидуальное повышение температуры ни у одного из трех кроликов не превышает 0,5 °С. При внутривенном введении кроликам экстракта из образцов БМКГ$_{адг}$ индивидуальное повышение температуры у всех трех кроликов не превышало 0,1. Биомиметик БМКГ$_{адг}$ не вызывает пирогенного ответа.

Таким образом, по результатам проведенного комплекса исследований установлено, что разработанный биополимерный гомогенный многокомпонентный гидрогель не проявляет токсичности и полностью соответствует требованиям, предъявляемым стандартами серии ГОСТ ISO 10993 к медицинским изделиям, предназначенным для кратковременного контакта с тканями организма.

Результаты оценки эффективности БМКГ$_{адг}$ на экспериментальной модели ожоговой раны

Наблюдения за лабораторными животными

У всех крыс образовался термический ожог IIIA степени, характеризовавшийся поражением всей толщи кожи. День нанесения ожога считали 1-ми сутками эксперимента. Кожа на месте ожога была плотная, неподвижная, не чувствительная к болевым раздражителям, четко ограничивалась от окружающей здоровой ткани. Начиная с 3-го дня эксперимента у некоторых животных начиналось размягчение грубого толстого струпа, при надавливании из-под него выделялся серозный экссудат, далее наблюдали отторжение струпа.

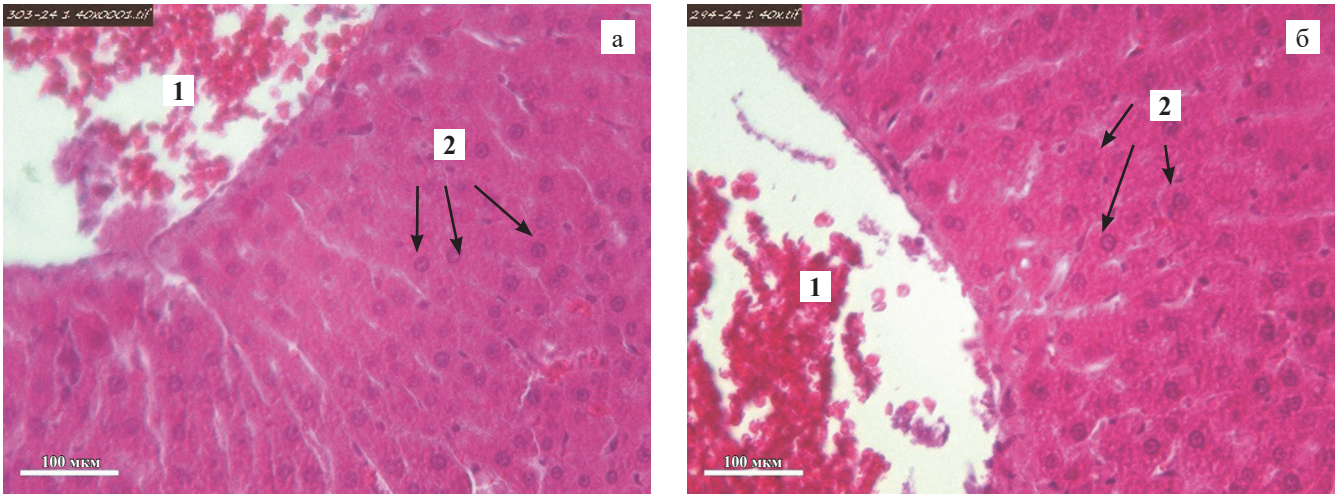


Рис. 4. Гистологический срез печени крысы: а – контрольная группа; б – БМКГ$_{адг}$. Окраска гематоксилином и эозином. 1 – центральная вена; 2 – гепатоциты с ядром. ×400. Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия)

Fig. 4. Histological section of rat liver tissue: a – control group; б – MCBAH-treated group. H&E stain. 1 – central vein; 2 – hepatocytes with nuclei. Magnification ×400. Microscopy performed using the Leica DM1000 Microscope (Leica Microsystems, Germany)

Отторжение струпа по срокам статистически достоверно не отличалось между опытной и контрольной группами. Полностью струп отторгся в опытной группе к 19-м суткам исследования на 90%, в контрольной – на 80%; на 20-е сутки исследования – на 100 и 80% соответственно. Крысы контрольной группы расчесывали раны, усугубляя процесс заживления ран после ожога. В группе с нанесением биомиметика расчесов не было.

Стадия эпителизации раны после отторжения струпа началась для обеих групп на 21-е сутки. Визуально репаративные процессы (относительно уменьшения площади ожога) более заметно выражены у животных опытной группы. Полное заживление раны у этой группы с образованием тонкого нежного рубца наступало в среднем на 35-е сутки эксперимента (рис. 6).

При гистологическом исследовании у всех крыс зона термического поражения распространялась как на эпидермис, дерму, так и на подкожно-жировую клетчатку и подлежащие мышцы, что соответствует ожогу IIIA степени. При измерении морфометри-

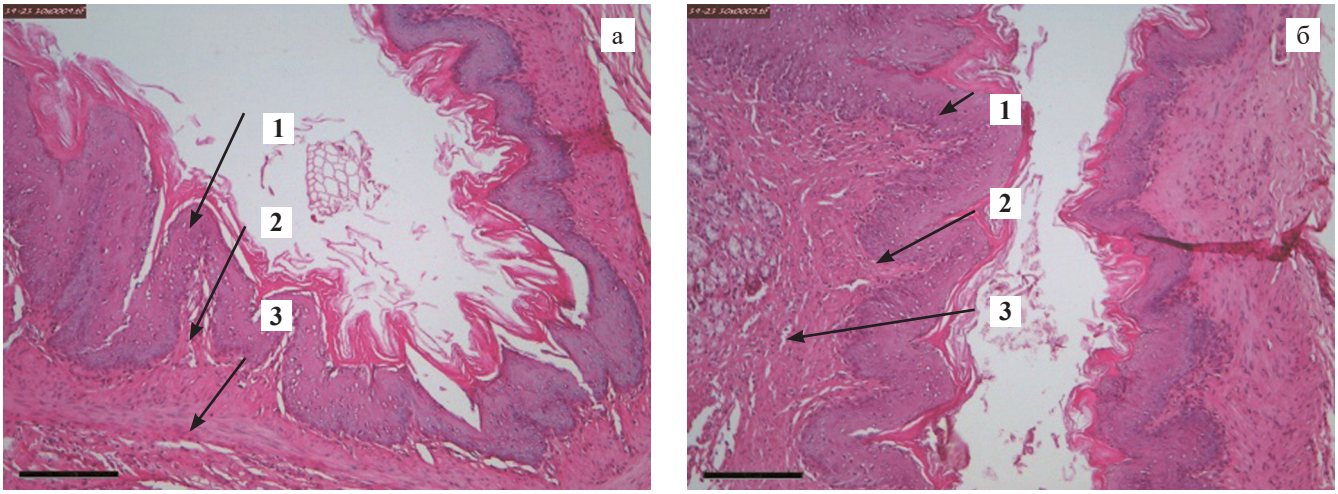


Рис. 5. Гистологический срез стенки защечного мешка хомяка: а – контрольной группы; б – БМКГ$_{адг}$. 1 – слизистая оболочка, 2 – соединительно-тканная оболочка, 3 – мышечная оболочка. Окраска гематоксилином и эозином. ×100. Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия)

Fig. 5. Histological section of the cheek pouch wall of a hamster: a – control group; б – MCBAH-treated group. 1 – mucous membrane; 2 – connective tissue layer; 3 – muscular layer. H&E stain. Magnification ×100. Microscopy performed using the Leica DM1000 Microscope (Leica Microsystems, Germany)

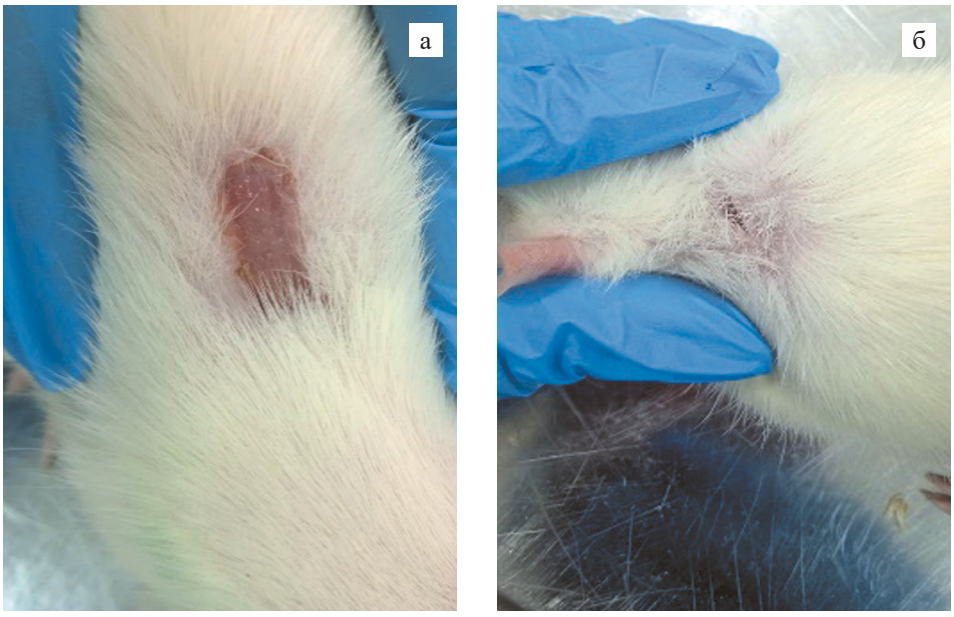


Рис. 6. Вид ран, срок 35-е сутки: а – контрольная группа, б – опытная группа

Fig. 6. Wound appearance at day 35 post-injury: a – control group; б – experimental group

ческих параметров, таких как общая толщина эпидермиса, общая толщина дермы и ширина раневого дефекта, выявлена статистическая разница между группами. Все исследуемые показатели опытной группы были значительно ниже морфометрических параметров контрольной группы.

На рис. 7 представлены структурные изменения ожоговой раны крыс контрольной (а, б) и опытной (в) групп.

Для контрольной группы (рис. 7, а) толщина эпителиального пласта значительно увеличена, роговой слой и зернистый слой представляют собой сплошную дистрофическую массу. Эпидермис утолщен в основном за счет шиповатого слоя. Клетки базального слоя местами отсутствовали. Отмечается неравномерность толщины эпидермиса с очаговой гиперпролиферацией с наличием акантотических разрастаний. В зоне дефекта (рис. 7, б) наблюдается струп, эпидермис отсутствует. Дерма представляет собой грубую волокнистую фиброзную ткань с видоизмененными фибробластами. В толще ткани наблюдались извилистые короткие утолщенные коллагеновые волокна. Волосяные фолликулы и потовые железы в зоне дефекта отсутствовали. Гиподерма отечна, представлена грануляционной тканью. Кровеносные сосуды полнокровны. Мышечная ткань в препаратах отсутствует.

Зона ожога опытной группы (рис. 7, в) полностью покрыта эпидермисом. Дерма представлена волокнистой фиброзной тканью многочисленными фибробластами. Тонкие коллагеновые волокна компактно располагаются преимущественно параллель-

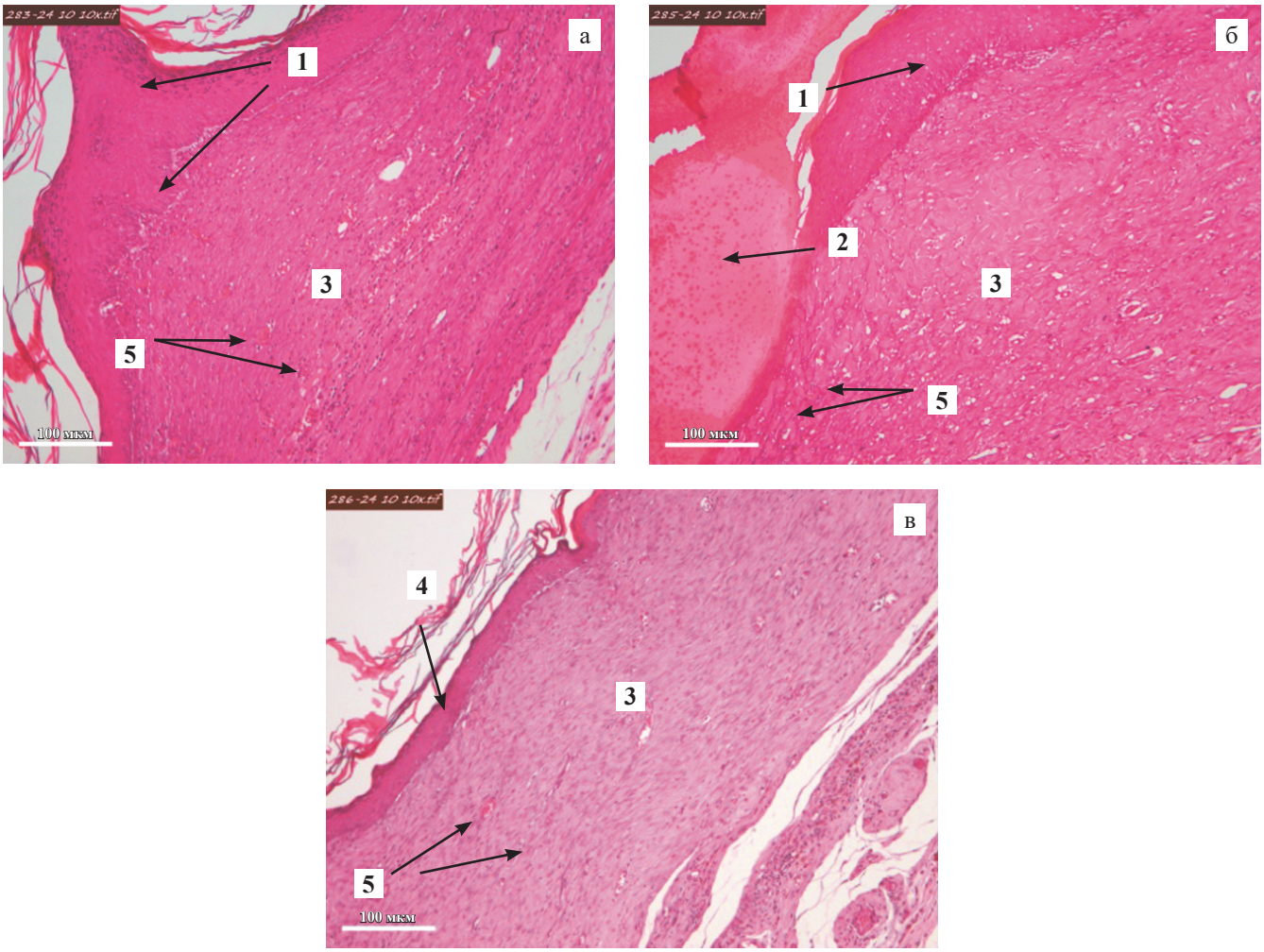


Рис. 7. Структурные изменения ожоговой раны: а, б – контрольная группа; в – опытная группа. 1 – неравномерность толщины эпидермиса с очаговой гиперпролиферацией эпидермиса с наличием акантотических разрастаний; 2 – струп, эпидермис отсутствует; 3 – дерма; 4 – эпидермис; 5 – кровеносные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином. ×100. Leica DM1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия)

Fig. 7. Structural changes in burn wounds: а, б – control group; в – experimental group treated with MCBAH. 1 – uneven epidermal thickness with focal epidermal hyperproliferation and acanthotic growths; 2 – scab, epidermis absent; 3 – dermis; 4 – epidermis; 5 – blood vessels. H&E stain. Magnification ×100. Microscopy performed using the Leica DM1000 Microscope (Leica Microsystems, Germany)

Таблица

Данные по вычислению ИУ заживления ран

Wound healing assessment

№	Продолжительность полного заживления раны (сутки)		
	$T_к$ Контроль	$T_о$ $БМКГ_{адг}$	ИУ, %
1	33	33	0
2	34	33	3
3	40	33	21
4	41	34	21
5	41	34	21
6	41	34	21
7	41	35	17
8	42	36	17
9	42	37	14
10	47	40	18
n	10	10	10
Средние значения $T_к$ и $T_о$	40,2	34,9	15,3

но эпидермису. Сосуды полнокровны. Придатки кожи и мышечная ткань в препаратах не определялись.

Значения продолжительности полного заживления раны для контрольной $T_к$ и опытной $T_о$ группы, а также ИУ заживления ран для каждой группы животных, вычисленный по формуле (1), приведены в таблице. Проверка распределения полученных значений продолжительности полного заживления раны показала, что их распределение значений не подчиняется нормальному распределению.

При использовании непараметрического метода анализа Манна–Уитни для установления статистической достоверности различий средних значений времени полного заживления раны в исследуемых группах было установлено, что применение миметика $БМКГ_{адг}$ ускорило заживление ран после ожоговой травмы на 15,3 ± 7,7% (34,9 сут, n = 10) по сравнению с заживлением раны не леченных животных (40,2 сут, n = 10) при $p < 0,01$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Объектом проведенного исследования был стерильный экспериментальный образец $БМКГ_{адг}$ в форме спрея, предназначенный для лечения обширных поверхностных ран различной этиологии. По результатам проведенного комплекса исследований установлено, что разработанный биополимерный гомогенный многокомпонентный гидрогель не проявляет токсичности и полностью соответствует требованиям, предъявляемым стандартами серии ГОСТ ISO 10993 к медицинским изделиям, предназначенным для кратковременного контакта с тканями организма. На экспериментальной модели термического ожога показано, что нанесение адгезивного миметика ВКМ на пораженные участки кожи сразу после формирования ожога и ежесуточно до полного заживления ран:

– на 15,3 ± 7,7% ускоряет заживление раны после ожоговой травмы у опытной группы (34,9 сут) по сравнению с ранами животных контрольной группы (40,2 сут) с надежностью $p < 0,01$;
– способствует формированию полноценного эпителиального пласта;
– ускоряет восстановление исходной гистоструктуры поврежденной кожи.

Полученные положительные результаты позволяют перейти к проведению исследований эффективности $БМКГ_{адг}$ на экспериментальных моделях поврежденных слизистых оболочек.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Sevastianov VI*, *Perova NV.* Part I. Extracellular Matrix Biomimetics. Chapter I. Multicomponent Hydrogel Biomimetics of Extracellular Matrix. In: Biomimetics of Extracellular Matrices for Cell and Tissue Engineered Medical Products / Eds. Sevastianov VI and Basok YuB – Newcastle upon Tyne, UK: Cambridge Scholars Publishing, 2023; 339.
2. *Farhat W, Hasan A, Lucia L, Becquart F, Ayoub A, Kobeissy F.* Hydrogels for Advanced Stem Cell Therapies: A Biomimetic Materials Approach for Enhancing Natural Tissue Function. *IEEE Rev Biomed Eng.* 2019; 12: 333–351. doi: 10.1109/RBME.2018.2824335. PMID: 29993840.
3. *Jones CL, Penney BT, Theodossiou SK.* Engineering Cell–ECM–Material Interactions for Musculoskeletal Regeneration. *Bioengineering (Basel).* 2023; 10 (4): 453. doi: 10.3390/bioengineering10040453. PMID: 37106640.
4. *Hao D, Lopez J.-M, Chen J, Iavorovschi AM, Lelivelt NM, Wang A.* Engineering Extracellular Microenvironment for Tissue Regeneration. *Bioengineering (Basel).* 2022; 9 (5): 202. doi: 10.3390/bioengineering9050202. PMID: 35621480.
5. *Hughes CS, Postovit LM, Lajoie GA.* Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics.* 2010; 10 (9): 1886–1890. doi: 10.1002/pmic.200900758. PMID: 20162561.
6. *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, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2014-3-93-108.
7. *Севастьянов ВИ, Перова НВ.* Способ получения композиции биополимерного микрогетерогенного

коллагенсодержащего гидрогеля. Патент на изобретение RU 2832796 C1, 09.01.2025. *Sevastyanov VI, Perova NV.* Method of producing composition of biopolymer microheterogeneous collagen containing hydrogel. Patent na izobretenie RU 2832796 C1, 09.01.2025.

8. *Урьяш ВФ, Севастьянов ВИ, Кокурина НЮ, Порунова ЮА, Перова НВ, Фаминская ЛА.* Теплоемкость, физические переходы коллагена и растворимость воды в нем. *Журнал общей химии*. 2006; 76 (9): 1421–1425. *Ur'yash VF, Sevast'yanov VI, Kokurina NYu, Porunova YuV, Perova NV, Faminskaya LA.* Heat Capacity and Physical Transitions in Collagen and Solubility of Water in It. *Russian Journal of General Chemistry.* 2006; 76 (9): 1363–1367. [In Russ, English abstract]. doi: 10.1134/S1070363206090039.
9. *Севастьянов ВИ, Перова НВ.* Биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ – инъекционный биодеградируемый имплантат для заместительной и регенеративной медицины. *Практическая медицина*. 2014; 8 (84): 110–1116. *Perova NV, Sevastianov VI.* Biopolymer heterogenic hydrogel Sphero®gel – an injection biodegradable implant for substitutive and regenerative medicine. *Prakticheskaya meditsina*. 2014; 8 (84): 111–116. [In Russ, English abstract].
10. *Балан ВЕ, Краснопольская КВ, Оразов МР, Токтар ЛР, Тихомирова ЕВ.* Коллагенотерапия пациенток с генитоуринарным менопаузальным синдромом – новая возможность в арсенале врача. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2020; 20 (4): 65–75. *Balan VE, Krasnopolskaya KV, Orazov MR, Toktar LR, Tikhomirova EV.* Collagenotherapy for patients with genitourinary menopausal syndrome is a new opportunity in the doctor's arsenal. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist.* 2020; 20 (4): 65–75. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17116/rosakush20202004165.
11. *Wang M, Shi J, Yu C, Zhang X, Xu G, Xu Z, Ma Y.* Emerging strategy towards mucosal healing in inflammatory bowel disease: what the future holds? *Front Immunol.* 2023; 14: 14: 1298186. doi: 10.3389/fimmu.2023.1298186. PMID: 38155971.
12. *Кульчавеня ЕВ.* Новый подход к пониманию патогенеза и к лечению инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполовой системы. *Урология.* 2020; (5): 99–105. *Kulchavenya E.V.* A new approach to understanding the pathogenesis and treatment of infectious and inflammatory diseases of the urogenital tract. *Urologiia.* 2020; (5): 99–105. [In Russ, English abstract]. doi: 10.18565/urology.2020.5.99-105.
13. ГОСТ Р 52770-2023 Изделия медицинские. Система оценки биологического действия. Общие требования безопасности. М.: Российский институт стандартизации, 2024. GOST R 52770-2023 Medical devices. Biological impact evaluation system. General requirements for safety. M.: Russian Institute of Standardization, 2024. [In Russ.].
14. ГОСТ ISO 10993-1-2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования в процессе менеджмента риска. М.: Российский институт стандартизации, 2021. GOST ISO 10993-1-2021 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 1. Evaluation and testing within a risk management process. M.: Russian Institute of Standardization, 2021. [In Russ.].
15. ГОСТ ISO 10993-5-2023 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность методами *in vitro.* М.: Российский институт стандартизации, 2023. GOST ISO 10993-5-2023 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 5. Cytotoxicity studies by *in vitro* methods. M.: Russian Institute of Standardization, 2023. [In Russ.].
16. ГОСТ ISO 10993-11-2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 11. Исследования общетоксического действия. М.: Российский институт стандартизации, 2021. GOST ISO 10993-11-2021 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 11. Tests for systemic toxicity. M.: Russian Institute of Standardization, 2021. [In Russ.].
17. ГОСТ ISO 10993-10-2023 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 10. Исследования сенсибилизирующего действия. М.: Российский институт стандартизации, 2023. GOST ISO 10993-10-2023 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 10. Sensitization tests. M.: Russian Institute of Standardization, 2023. [In Russ.].
18. ГОСТ ISO 10993-23-2023 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 23. Исследования раздражающего действия. М.: Российский институт стандартизации, 2023. GOST ISO 10993-23-2023 Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 23. Tests for irritation. M.: Russian Institute of Standardization, 2023. [In Russ.].
19. Фармакопея Евразийского экономического союза, 2.1.6.2. Пирогенность. М.: Евразийская экономическая комиссия, 2020. Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union, 2.1.6.2. Pyrogenicity. M.: Eurasian Economic Commission, 2020. [In Russ.].

Статья поступила в редакцию 11.09.2025 г.
The article was submitted to the journal on 11.09.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-117-127

НАНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ 3Т3, КУЛЬТИВИРОВАННЫХ НА ТКАНЕВЫХ СКАФФОЛДАХ НА ОСНОВЕ НАТУРАЛЬНОГО ШЕЛКА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

А.Е. Ефимов[1], Е.И. Подболотова[1, 2], О. Доси[2], О.И. Агапова[1], И.И. Агапов[1]

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

[2] ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)», Долгопрудный, Московская область, Российская Федерация

Цель: провести наноструктурный анализ особенностей взаимодействия фибробластов мыши 3Т3 с тканевыми скаффолдами на основе натурального шелка в условиях *in vitro* с использованием технологии сканирующей зондовой нанотомографии. **Материалы и методы.** Для исследования были получены образцы двух типов тканевых скаффолдов из натурального шелка: «Фиброплен-Атлас» и «Фиброплен-Газ», а также их модифицированные версии «Фиброплен-Атлас 80» и «Фиброплен-Газ 80». Фибробласты мыши 3Т3 культивировались на тканевых скаффолдах в течение 7 суток. Препараты тканевых скаффолдов с культивированными фибробластами были фиксированы и залиты в эпоксидную смолу. Исследование поверхности полученных образцов после среза ультрамикротомом производилось методом сканирующей зондовой нанотомографии. Анализ полученных данных позволяет количественно определить важные морфологические параметры клеток, тканевых скаффолдов и интерфейсов между ними. **Результаты.** Анализ полученных изображений указывает на утончение и разобщение микроволокон в нитях модифицированных скаффолдов «Фиброплен-Атлас 80» и «Фиброплен-Газ 80». В отличие от немодифицированных версий скаффолдов в данном случае фибробласты в равной мере взаимодействуют как с внутренними, так и с внешними поверхностями микроволокон нитей шелковых скаффолдов, что приводит к значительному (до 40%) росту параметра, отражающего долю площади поверхности клеток, взаимодействующую с поверхностью скаффолда. **Заключение.** Наноструктурный анализ фибробластов мыши 3Т3, культивированных на тканевых скаффолдах на основе натурального шелка, позволил получить данные о топологических и морфологических особенностях взаимодействия клеток с модифицированными и немодифицированными тканевыми скаффолдами. Взаимодействие клеток с микроволокнами внутри нитей модифицированных скаффолдов может служить ускорению биодеградации данных скаффолдов. Совокупность полученных наноструктурных данных и результатов клеточных экспериментов *in vitro* позволяет сделать вывод о том, что разработанные скаффолды поддерживают адгезию клеток 3Т3 и формирование клеточно-матриксных контактов.

Ключевые слова: фибробласты, фиброин шелка, сканирующая зондовая микроскопия, нанотомография.

Для корреспонденции: Агапов Игорь Иванович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

Corresponding author: Igor Agapov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 190-66-19. E-mail: igor_agapov@mail.ru

NANOSTRUCTURAL ANALYSIS OF 3T3 MOUSE FIBROBLASTS CULTURED ON NATURAL SILK-BASED TISSUE SCAFFOLDS *IN VITRO*

A.E. Efimov[1], E.I. Podbolotova[1, 2], O. Dosi[2], O.I. Agapova[1], I.I. Agapov[1]

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

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

Objective: to perform a nanostructural analysis of the interaction between mouse 3T3 fibroblasts and natural silk-based tissue scaffolds *in vitro* using scanning probe nanotomography (SPN). **Materials and methods.** Two types of natural silk tissue scaffolds were investigated: Fibroplen-Atlas and Fibroplen-Gaz, along with their modified variants, Fibroplen-Atlas 80 and Fibroplen-Gaz 80. Mouse 3T3 fibroblasts were cultured on the scaffolds for 7 days. Following incubation, scaffold–cell constructs were fixed and embedded in epoxy resin. Ultrathin sections were prepared using an ultramicrotome, and the sample surfaces were analyzed by SPN. The acquired data enabled quantitative assessment of key morphological parameters of the cells, the scaffolds, and the interfaces between them. **Results**. Analysis of the acquired images revealed thinning and fragmentation of microfibers within the strands of the modified scaffolds (Fibroplen-Atlas 80 and Fibroplen-Gaz 80). In contrast to the unmodified scaffolds, fibroblasts in the modified matrices interacted with both the inner and outer surfaces of the microfibers. This enhanced interaction resulted in a marked increase (up to 40%) in the proportion of the cell surface area in contact with the scaffold surface. **Conclusion.** Nanostructural analysis of mouse 3T3 fibroblasts cultured on natural silk-based tissue scaffolds provided detailed insights into the topological and morphological features of cell–scaffold interactions in both modified and unmodified matrices. Enhanced interaction between cells and microfibers within the modified scaffold strands may promote accelerated scaffold biodegradation. The combined nanostructural findings and *in vitro* cell culture results indicate that the developed scaffolds effectively support 3T3 cell adhesion and the formation of stable cell–matrix contacts.

Keywords: fibroblasts, silk fibroin, scanning probe microscopy, nanotomography.

ВВЕДЕНИЕ

Биосовместимые материалы на основе фиброина шелка тутового шелкопряда *Bombyx mori* обладают высоким регенеративным потенциалом и могут быть использованы в различных областях медицины, таких как тканевая инженерия, разработка систем доставки лекарственных средств, заживление ран, лечение онкологических заболеваний и воспалений различной этиологии [1–4]. Фиброин может быть использован в различных формах медицинских изделий, таких как гели [5–7], пленки [8, 9], пористые [10–12] или волокнистые скаффолды [13–14]. Волокнистые скаффолды представляют особый интерес для разработок медицинских изделий, так как обеспечивают хорошую механическую поддержку, высокую пористость и возможность управления направлением клеточной миграции, что делает их актуальными для инженерии тканей, требующих строго организованной архитектуры [13].

Волокнистые структуры на основе фиброина могут быть получены с помощью электроспиннинга или путем использования готовых тканых и нетканых материалов, а также их ручной сборки [15–17]. Такие волокна и ткани применяются для создания ориентированных структур, имитирующих внеклеточный матрикс, и особенно перспективны для направленного роста нейронов, сосудов и сухожилий.

Одним из ключевых преимуществ натурального шелка в виде тканых материалов является развитая и масштабная система их промышленного производства [18]. Дополнительное преимущество – сравнительно низкая стоимость готовых тканых материалов по сравнению с более трудоемкими и маломасштабными методами получения биоматериалов, такими как электроспиннинг [19]. Шелковые ткани легко поддаются различным видам модификации – им можно задавать конкретные физические свойства, покрывать биополимерами, насыщать клетками или биоактивными веществами, что открывает широкие возможности для серийного производства медицинских изделий на их основе [17].

Особенно перспективно применение тканых шелковых материалов для создания скаффолдов для регенерации ран. Упорядоченная структура полотна облегчает анализ клеточной миграции и ориентации при культивировании, а также позволяет точно настраивать архитектуру будущего тканевого эквивалента.

Таким образом, натуральный шелк в форме тканых текстильных материалов представляет собой высокоэффективную основу для создания разнообразных биомедицинских конструкций. Сочетание биосовместимости, прочности, контролируемой деградации и технологичности делает его одним из наиболее универсальных кандидатов для разработки

скаффолдов для тканевой инженерии и регенеративной медицины.

В предыдущих работах [20–23] нами было описано получение биосовместимых тканевых скаффолдов «Фиброплен-Газ» и «Фиброплен-Атлас» на основе модифицированных тканей из натурального шелка (газ шифон и атлас соответственно), нацеленных на лечение раневых поверхностей и замещение дефектов ткани. Проведенные исследования подтвердили, что модификация шелковых тканевых скаффолдов позволяет целенаправленно изменять их свойства, влияя на скорость биодеградации, воспалительный ответ и васкуляризацию [22]. Варьирование параметров обработки позволяет получить биоматериалы с контролируемой степенью деструкции белковой матрицы, что непосредственно отражается на их прочностных характеристиках и предполагаемой кинетике биодеградации [23].

Однако важнейшим этапом разработки эффективных медицинских изделий на основе шелковых тканевых скаффолдов является качественный и количественный анализ микро- и наноструктурных особенностей взаимодействия клеток с волокнами скаффолдов *in vitro*. Данный анализ обычно выполняется при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), однако СЭМ-изображения тканевых и клеточных структур на скаффолдах представляют собой вид сверху и не позволяют напрямую исследовать области контакта клеток с волокнами. Для решения данной задачи мы используем в качестве аналитической технологии метод сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ) – комбинацию методов ультрамикротомии (сверхтонких срезов поверхности толщиной от 20 нм) и измерений поверхности блока исследуемого образца после среза методом сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) [12, 24]. Эта методика, основанная на аппаратной интеграции данных приборов в рамках одной экспериментальной установки, позволяет получить СЗМ-изображения поверхности клеток и волокон матрикса в поле среза, выполняемого в плоскости, перпендикулярной плоскости скаффолда [25–27].

Процессы репарации и регенерации тканей, особенно раневых поверхностей и повреждений кожного покрова, в значительной степени регулируются активностью фибробластов, которые обеспечивают синтез компонентов внеклеточного матрикса, ремоделирование поврежденных участков и сокращение раневого дефекта. Взаимодействие фибробластов с биоматериалами, используемыми в медицинских изделиях, во многом определяет эффективность ранозаживления [28]. Целью данного исследования являлось проведение наноструктурного анализа особенностей взаимодействия фибробластов мыши 3T3 с тканевыми скаффолдами на основе натурального шелка в условиях *in vitro* с использованием технологии сканирующей зондовой нанотомографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение тканевых скаффолдов на основе натурального шелка

Тканевые скаффолды «Фиброплен-Газ», «Фиброплен-Газ 80», «Фиброплен-Атлас» и «Фиброплен-Атлас 80» на основе натурального шелка *Bombyx mori* были получены по описанной ранее методике [20–23]. Для получения тканевых скаффолдов использовали ткани из натурального шелка, состоящие исключительно из шелкового волокна и не содержащие посторонних примесей (декларация о соответствии EAC N RU Д-CN.PA09.B.91575/23, Tianjin Textile Industrial Supply And Sale Co., Ltd, КНР). В исследовании применяли два типа шелковых тканей с различной плотностью: газ-шифон (плотность 15 г/м^2) и атлас (плотность 155 г/м^2). Сначала для удаления серицина ткани кипятили в растворе бикарбоната натрия на водяной бане в течение 40 минут, затем промывали в дистиллированной воде и повторно кипятили 30 минут. Процедуру повторяли трижды, после чего скаффолды высушивались на воздухе при комнатной температуре. Таким способом были получены образцы, обозначаемые как «Фиброплен-Газ» и «Фиброплен-Атлас» соответственно. Для получения модифицированных скаффолдов, обозначаемых «Фиброплен-Газ 80» и «Фиброплен-Атлас 80», образцы «Фиброплен-Газ» и «Фиброплен-Атлас» инкубировали в водно-спиртовом растворе хлорида кальция в молярном соотношении 1 : 2 : 8 при температуре 46 °C в течение времени, соответствующего 80% от времени полной деструкции ткани в данных условиях, что составляло 352 минуты для образцов «Фиброплен-Газ» и 216 минут для образцов «Фиброплен-Атлас». После обработки модифицированные образцы тщательно промывали дистиллированной водой и сушили на воздухе при комнатной температуре.

Культивирование клеток на тканевых скаффолдах

Клетки линии 3T3 (ATCC® CRL-1658™) культивировали в DMEM с высоким содержанием глюкозы (Gibco, США), дополненной 10% FBS (Gibco, Бразилия), 50 мкг/мл гентамицина (HiMedia, США) и 2 мМ GlutaMAX™ (Thermo Fisher Scientific). Культивирование проводили при 37 °C в увлажненной атмосфере 5% CO_2. Перед экспериментами клетки отделяли трипсином и ресуспендировали в среде. Подсчет клеток проводили с использованием гемоцитометра на инвертированном микроскопе Carl Zeiss Axio Vert.A1 (Zeiss, Jena, Германия).

Для экспериментов по культивированию клеток на скаффолдах *in vitro* стерильные тканевые скаффолды диаметром 17 мм увлажняли средой DMEM и помещали на дно лунок стандартного 24-луночного планшета. В каждую лунку вносили клеточную суспензию плотностью $3,5 \times 10^4$ клеток. Для каждого типа скаффолдов подготавливали по 7 лунок. Инкубация скаффолдов с клетками для исследований производилась в течение 7 суток. После инкубации скаффолды извлекали из лунок, дважды промывали фосфатно-солевым буфером для удаления несвязанных клеток и остатков среды и проводили оценку внешнего вида клеток с помощью световой микроскопии.

Сканирующая электронная микроскопия

Для выявления изменений поверхности и микроструктуры в образцах тканевых скаффолдов с культивированными клетками 3T3 образцы изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Образцы обезвоживали путем последовательного переноса в растворы этанола с возрастающей концентрацией – 10, 20, 50, 70 и 95%, по 30 минут в каждом растворе. После этого образцы наносили на предметное стекло и сушили в вакууме в течение 1 часа с использованием камеры системы напыления с ротационным насосом Q150R ES (Quorum Technologies, Великобритания). Высушенные образцы покрывали слоем золота толщиной 5 нм в атмосфере аргона при ионном токе 20 мА и давлении 1 мбар с использованием той же системы Q150R ES (Quorum Technologies, Великобритания). Анализ проводили с помощью растрового электронного микроскопа Tescan Vega3 SBU (Tescan, Чехия) при напряжении 30 кВ. Съемка осуществлялась с использованием программного обеспечения VegaTC (Tescan, Чехия).

Сканирующая зондовая нанотомография

Анализ образцов методом сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ) выполнялся с использованием специализированного сканирующего зондового микроскопа (СЗМ), комбинированного с ультрамикротомом Leica EM UC6 (Leica Microsystems GmbH, Австрия) для сканирующей зондовой нанотомографии. Для пробоподготовки при помощи скальпеля вырезали фрагменты скаффолдов размером 1,5×1,5 мм. Затем фрагменты скаффолдов фиксировались в 2,5% растворе глутарового альдегида в натрий-фосфатном буфере (pH = 7,4) в течение 2 часов в темноте при +4 °C, и производилось три отмывки образцов в натрий-фосфатном буфере по 10 минут. После этого производили дегидратацию образцов проводкой по спиртам с увеличивающейся концентрацией. Далее производили три отмывки образцов в ацетоне по 10 минут, а затем инкубировали в смеси ацетона и эпоксидной среды в соотношении 1 : 1 в течение 30 минут, после чего образцы переносили в смесь пропиленоксида и эпоксидной среды в соотношении 1 : 2 и инкубировали в течение 30 минут. Затем образцы заключали в эпоксидную смолу, инкубировали в термостате при 45 °C в течение 12 часов, после чего продолжали инкубацию в течение 72 часов при температуре 60 °C. Для заливки образцов использовалась эпоксидная среда (Epoxy Embedding Medium, Sigma-Aldrich, Cat. № 45345), смешиваемая с равным по массе количеством отвердителя заливочной среды (додеценилянтарный ангидрид DDSA) и 4% по массе 2,4,6-трис-(диметиламинометил)-фенола (DMP-30).

Срезы образцов скаффолдов толщиной 70 нм выполнялись с использованием алмазного ножа Diatome Ultra AFM 35 (Diatome AG, Швейцария) с шириной режущей кромки 2,0 мм. СЗМ-измерения проводились в полуконтактном режиме при скорости сканирования 1,56 Гц с использованием кремниевых зондов-кантилеверов HA_HR (Tipsnano OÜ, Эстония) с резонансной частотой 405 кГц и радиусом кривизны острия <10 нм. При сканировании были получены корреляционные изображения в режимах отображения топографии и фазы размерами 1024×1024 пиксела. Обработка СЗМ-изображений и анализ морфологических параметров скаффолдов выполнялись в программе Nova ImageAnalysis 1.0.26.1443 (НТ-МДТ, Москва).

Обработка данных

Все количественные данные представлены в виде среднего значения ± стандартного отклонения (M ± SD). Для оценки достоверности различий между группами использовался непараметрический критерий Манна–Уитни. Значения считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Обработка данных и построение графиков проводились с использованием программы OriginPro (OriginLab Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Метод сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ) основан на комбинации техник сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) и ультрамикротомии в рамках одного приборного комплекса, позволяющего выполнять СЗМ-измерения поверхности образцов *in situ* непосредственно после выполнения сверхтонкого среза ультрамикротомом [24]. Для выполнения исследований методом СЗНТ образцы биоматериалов и биологических объектов подвергаются специальной пробоподготовке, аналогичной процедуре подготовки образцов для трансмиссионной (просвечивающей) электронной микроскопии, а именно фиксации, дегидратации и заливке в эпоксидную среду (подробнее см. раздел «Материалы и методы»). Ультрамикротомирование образцов выполняется с использовани-

ем специализированного алмазного ножа UltraAFM (Diatome AG, Швейцария), позволяющего получать после среза поверхность блока с качеством, приемлемым для СЗМ-измерений. Срез области интереса образца производится в механически задаваемой оператором плоскости. Таким образом, изменяя ориентацию образца, мы можем получить доступ к областям, не доступным методам оптической или сканирующей электронной микроскопии, и получить уникальную информацию об их наноструктуре. После среза к поверхности срезанного блока подводится зонд СЗМ и выполняется сканирование интересующей области поверхности. В случае полимерных и биологических образцов предпочтительно применять полуконтактные методики СЗМ-измерений. При этом зонд СЗМ, находящийся на кремниевой балке (кантилевере), совершает вынужденные колебания на ее резонансной частоте (обычно в диапазоне от 100 до 500 кГц, в зависимости от выбранной модели зонда) с физической амплитудой в несколько десятков нанометров. Взаимодействие зонда с поверхностью детектируется по падению величины регистрируемой амплитуды до заданного значения (set point). Таким образом, зонд физически взаимодействует с поверхностью (находится в зоне отталкивания сил Ван-дер-Ваальса) только в нижней точке своих колебаний. Этот метод минимизирует нарушения поверхности мягких материалов, вызываемые острым кремниевым зондом при сканировании, к тому же кроме топографии образца позволяет выполнять измерения фазы сдвига колебаний кантилевера относительно несущего сигнала. Эта методика является важной для наших исследований, так как изменения фазы колебаний кантилевера зависят от локальных вязкоупругих свойств поверхности, что часто позволяет получить дополнительный контраст и улучшенное разрешение при измерениях биологических и полимерных образцов [25]. Радиус кривизны острия кремниевого зонда СЗМ составляет менее 10 нм, что определяет физическое латеральное разрешение метода.

В нашем случае мы выполняли срезы в плоскостях, перпендикулярных плоскостям тканевых скаффолдов и перпендикулярных одному из направлений нитей в скаффолдах, получая таким образом дополнительную к методам электронной и оптической микроскопии наноструктурную информацию. Для исследований были выбраны образцы «Фиброплен-Газ», «Фиброплен-Газ 80», «Фиброплен-Атлас 80» и «Фиброплен-Атлас» с культивированными (срок культивирования 7 суток) фибробластами мыши 3Т3. Срок культивирования был выбран исходя из результатов предыдущих *in vitro* исследований материалов на основе фиброина шелка, которые показали, что на 7-е сутки культивирования на них наблюдается устойчивая пролиферация фибробластов мыши 3Т3 [8, 14]. Каждый образец был фиксирован и разделен

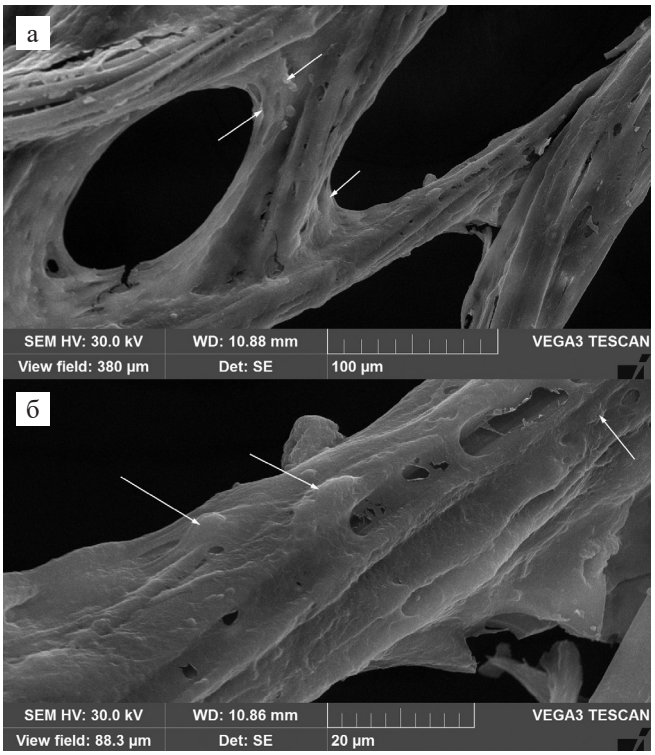


Рис. 1. СЭМ-изображения поверхности нитей тканевого скаффолда «Фиброплен-Газ 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток): а – ×1000; б – ×4310. Стрелками указаны примеры фибробластов

Fig. 1. SEM images of the surface of Fibroplen-Gaz 80 tissue scaffold fibers following 7 days of culture with mouse 3T3 fibroblasts: a – magnification ×1000; б – magnification ×4310. Arrows indicate representative of fibroblasts

скальпелем на две части, одна из которых исследовалась при помощи СЭМ, а вторая подвергалась заливке в эпоксидную среду и анализу при помощи СЗНТ.

На рис. 1, а, приведен пример СЭМ-изображения образца скаффолда «Фиброплен-Газ 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3. Мы можем наблюдать нити тканевого скаффолда, плотно покрытые клетками. На рис. 1, б, приведено СЭМ-изображение одной нити данного скаффолда с повышенным увеличением. Однако очевидно, что применение только метода СЭМ в данном случае не позволяет нам получить информацию о внутренней структуре нитей тканевых скаффолдов и распределению клеток внутри них. Использование метода СЗНТ позволило нам выявить и проанализировать существенные различия в структуре скаффолдов «Фиброплен-Газ» и «Фиброплен-Газ 80», которые определяют отличия в адгезии клеток. На рис. 2 приведены СЗМ-изображения поверхности поперечного среза нити скаффолда «Фиброплен-Газ» после среза ультрамикротомом.

В среднем каждая нить скаффолда «Фиброплен-Газ» имеет диаметр порядка 50 мкм и состоит из

~14 шелковых микроволокон размером порядка 10 мкм. Сечение данных микроволокон может иметь нерегулярную форму, далекую от круговой, часто напоминающую вытянутый многоугольник со сглаженными углами либо сектор или сегмент круга. Важным обстоятельством является то, что большинство микроволокон в нитях скаффолда «Фибропленгаз», полученного на основе немодифицированной ткани, компактно собраны и склеены между собой.

На рис. 2, в, г, приведены увеличенные СЗМ-изображения фрагментов среза нити, полученные в режиме отображения фазы. Этот метод позволяет отображать наноструктуры скаффолдов и клеток на срезах с меньшим влиянием механических шумов и повышенными контрастом и разрешением. В частности, на данном изображении мы различаем клетки фибробластов мыши 3Т3, контактирующие с микроволокнами только с внешней стороны нити. Клетки

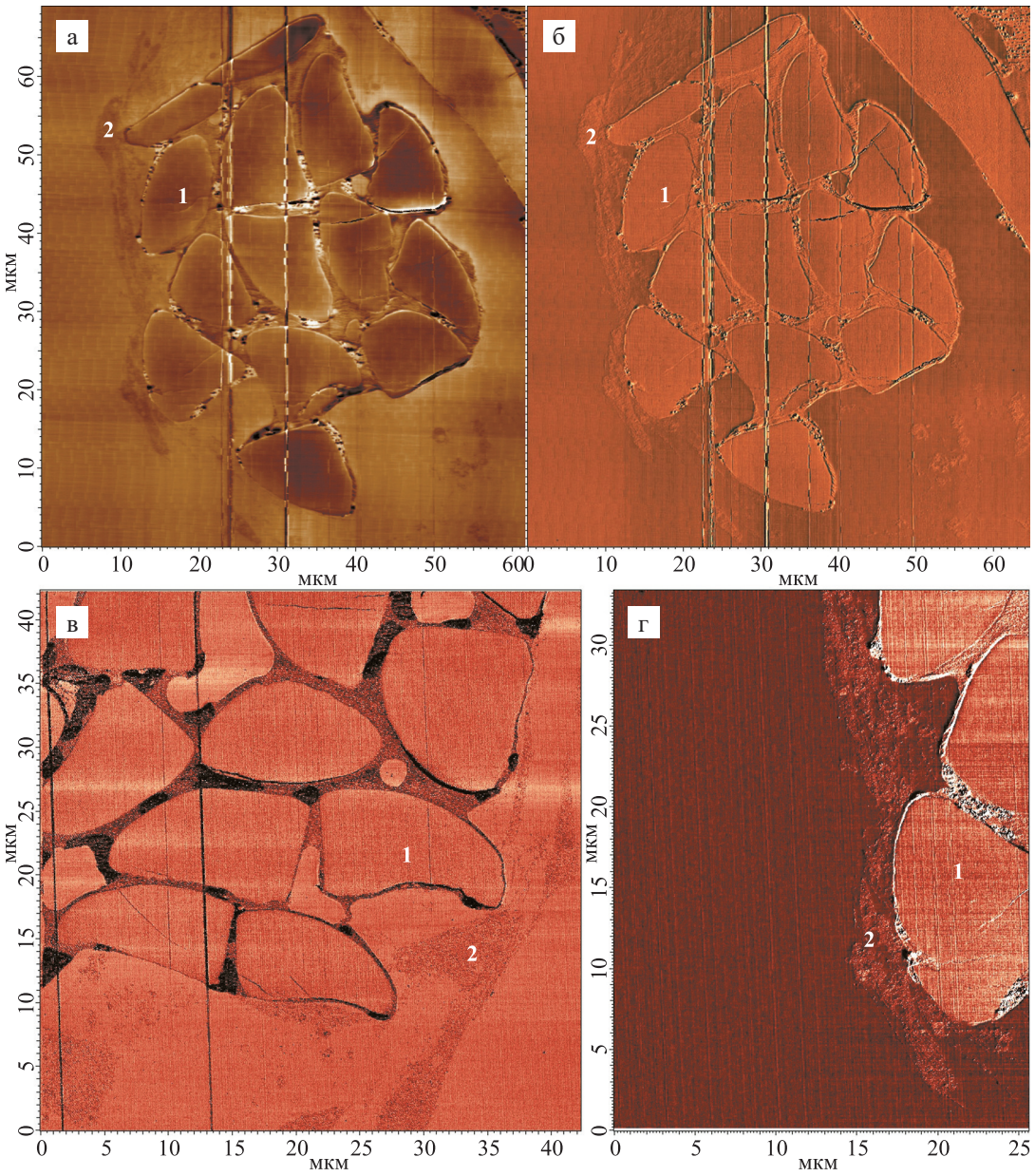


Рис. 2. СЗМ-изображения поверхности поперечного среза нитей тканевого скаффолда «Фибропленгаз» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток): а – режим отображения топографии; б – режим отображения фазы, размер скана 63,0×68,0 мкм, вариация высоты 50 нм; в – режим отображения фазы, размер скана 54,0×54,0 мкм, вариация высоты 50 нм; г – режим отображения фазы, размер скана 25,0×33,0 мкм. Обозначения: 1 – фиброиновые волокна; 2 – фибробласты

Fig. 2. SEM images of the cross-sectional surface of Fibroplen-Gaz tissue scaffold fibers following 7 days of culture with mouse 3T3 fibroblasts: a – topography mode; б – phase imaging mode (scan size: 63.0×68.0 μm; height variation: 50 nm); в – phase imaging mode (scan size: 54.0×54.0 μm; height variation: 50 nm); г – phase imaging mode (scan size: 25.0×33.0 μm). Labels: 1 – fibrin fibers; 2 – fibroblasts

и их отростки не могут проникнуть внутрь нити, так как микроволокна плотно совмещены друг с другом.

Для ряда полученных СЭМ-изображений срезов нитей скаффолдов с культивированными клетками был выполнен статистический анализ морфологических параметров клеток и микроволокон. Для статистического анализа были выбраны такие морфологические параметры сечений микроволокон, как площадь (S_f) и периметр (P_f) сечения, степень их вытянутости (e), вычисляемая как отношение сторон максимально вытянутого прямоугольника, охватывающего сечение [29], а также среднее расстояние (r) между границами микроволокон, усредняемое для каждой пары соседних сечений.

Полученные данные также позволили нам провести статистический анализ морфологических характеристик сечений клеток 3Т3 и интерфейсов между клетками и микроволокнами. Были проанализированы такие параметры, как толщина адгезированных клеток (t), площадь сечения клеток (S_c), средний периметр сечения клеток (P_c), а также усредненное отношение суммарной длины периметра контактов клетки с микроволокнами матрикса к общему периметру сечения клетки (k), являющееся важной характеристикой его способности к поддержке адгезии и пролиферации фибробластов [25]. Результаты анализа характеристик шелковых микроволокон и контактирующих с ними фибробластов мыши 3Т3 для всех исследованных скаффолдов представлены ниже в таблице.

На рис. 3 приведены СЭМ-изображения поверхностей поперечных срезов нитей скаффолда «Фиброплен-Газ 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток). В случае модифицированного скаффолда отдельные шелковые микроволокна в нитях совмещены не так плотно, как мы наблюдали в немодифицированном скаффолде, и клетки могут проникать и взаимодействовать с поверхностью микроволокон, в том числе внутри нити (см. увеличенные СЭМ-изображения фибробластов, взаимодействующих с микроволокнами, на рис. 3, в, г).

Выполненный количественный анализ параметров скаффолдов также указывает на утончение и разобщение микроволокон в модифицированных скаффолдах. Так, средняя площадь S_f сечения микроволокон в модифицированных скаффолдах «Фиброплен-Газ 80» уменьшилась на 18,6% по сравнению с немодифицированными, в то время как среднее расстояние между поверхностями микроволокон r резко выросло – от значения 1,34 ± 0,29 мкм для скаффолдов «Фиброплен-Газ» до 6,41 ± 2,25 мкм для скаффолдов «Фиброплен-Газ 80». Также можно отметить, что для модифицированных шелковых скаффолдов было получено более высокое среднее значение параметра k, отражающего долю периметра сечения клетки, взаимодействующую с поверхностью скаффолда: оно составило 0,17 ± 0,08 (по сравнению со значением 0,12 ± 0,06 для немодифицированных скаффолдов), что может быть связано с тем, что адгезия клеток происходит и на поверхностях микроволокон внутри нитей.

Аналогичные результаты наблюдаются при исследовании структуры скаффолдов на основе ткани атлас. На рис. 4 приведен пример СЭМ-изображений образца скаффолда «Фиброплен-Атлас 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3. В этом случае мы также наблюдаем пучки нитей скаффолда,

Таблица

Сравнительные морфологические характеристики тканевых скаффолдов и культивированных на них клеток 3Т3

Comparative morphological characteristics of tissue scaffolds and 3T3 cells cultured on them

Параметр	Фиброплен-Газ	Фиброплен-Газ 80	Фиброплен-Атлас	Фиброплен-Атлас 80
Средняя площадь сечения волокон S_f, мкм^2	102,86 ± 23,6	83,71 ± 35,8	88,62 ± 27,4	71,43 ± 22,8
Средний периметр сечения волокон P_f, мкм	41,54 ± 11,23	34,06 ± 15,64	34,64 ± 13,3	29,35 ± 12,4
Средний коэффициент вытянутости сечения волокон e	1,63 ± 0,35	1,76 ± 0,38	1,57 ± 0,27	1,68 ± 0,25
Среднее расстояние между границами волокон r, мкм	1,34 ± 0,29	6,41 ± 2,25	1,42 ± 0,32	10,85 ± 5,31
Средняя толщина клеток t, мкм	4,78 ± 1,41	5,22 ± 1,74	4,14 ± 1,42	3,72 ± 1,25
Средняя площадь сечения клеток S_c, мкм^2	77,06 ± 21,13	91, 53 ± 27,78	76, 44 ± 18,7	81, 44 ± 22,84
Средний периметр сечения клеток P_c, мкм	48,74 ± 16,43	56,32 ± 18,97	43,16 ± 14,2	51,48 ± 15,74
Средняя доля границы клетки, взаимодействующая с микроволокном, k	0,12 ± 0,06	0,17 ± 0,08	0,13 ± 0,07	0,19 ± 0,08

покрытые клетками (ср. с рис. 1). Обзорное СЭМ-изображение поверхности поперечного среза нити скаффолда «Фиброплен-Атлас 80» после среза ультрамикротомом приведено на рис. 5.

Можно отметить, что отдельные микроволокна в нити скаффолда в данном случае еще в большей степени разобщены. При этом количество микроволокон в нити примерно вдвое больше, чем в скаффолдах «Фиброплен-Газ», а сами нити, как видно из СЭМ-изображений, прилегают ближе друг к другу. В этом случае среднее расстояние между микроволокнами выросло до уровня 10,85 ± 5,31 мкм (см. таблицу), а клетки в равной мере адгезированы как на внутренние, так и на внешние микроволокна нитей, что

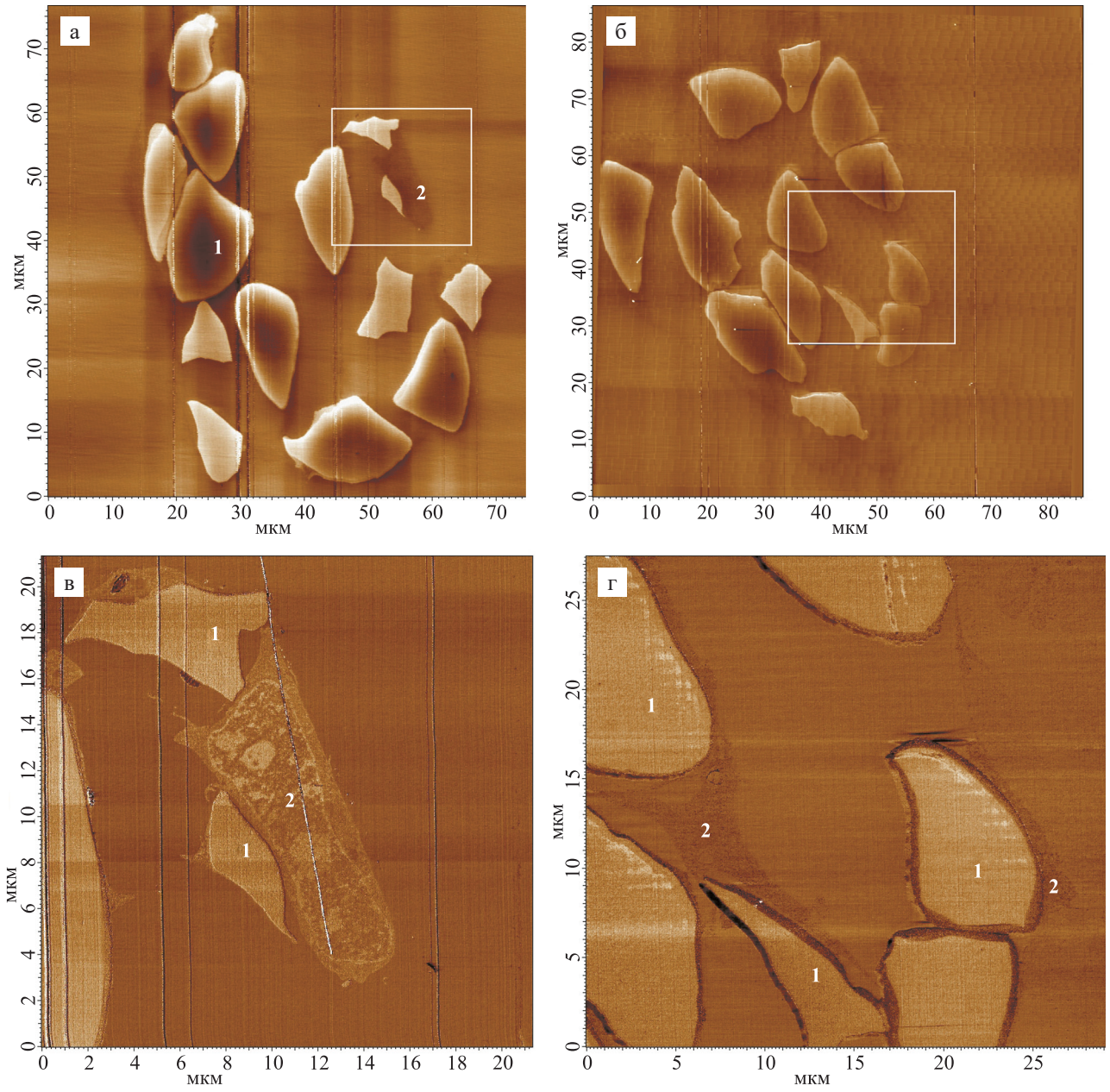


Рис. 3. СЗМ-изображения поверхности поперечного среза нити тканевого скаффолда «Фиброплен-Газ 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток): а – режим топографии, размер скана 74,0×74,0 мкм, вариация высоты 50 нм; б – режим топографии, размер скана 86,0×86,0 мкм, вариация высоты 60 нм; в – режим отображения фазы, размер скана 21,0×21,0 мкм (выделенная прямоугольником область на а); г – режим отображения фазы, размер скана 29,0×27,0 мкм (выделенная прямоугольником область на б). Обозначения: 1 – фиброиновые волокна; 2 – фибробласты

Fig. 3. SEM images of the cross-sectional surface of a Fibroplen-Gaz 80 tissue scaffold fiber following 7 days of culture with mouse 3T3 fibroblasts: a – topography mode (scan size: 74.0×74.0 μm; height variation: 50 nm); б – topography mode (scan size: 86.0×86.0 μm; height variation: 60 nm); в – phase imaging mode (scan size: 21.0×21.0 μm; region indicated by a rectangle in a); г – phase imaging mode (scan size: 29.0×27.0 μm; region indicated by a rectangle in б). Labels: 1 – fibrin fibers; 2 – fibroblasts

продемонстрировано на СЭМ-изображениях, приведенных на рис. 6.

При этом средняя площадь сечения микроволокон скаффолда «Фиброплен-Атлас 80» уменьшилась при модификации на 19,4%, а средняя доля периметра сечения клеток, взаимодействующая с поверхностью микроволокон, показывает тенденцию к увеличению от $k = 0{,}13 \pm 0{,}07$ до уровня $0{,}19 \pm 0{,}08$.

Наблюдаемое взаимодействие клеток с микроволокнами внутри нитей скаффолда может служить ускорению биодеградации скаффолдов, продемонстрированному нами в предыдущих работах [21, 22]. Учитывая высокую регенеративную активность фиброина шелка [1–4, 6–9], можно предположить, что модифицированные тканевые скаффолды «Фиброплен-Газ 80» и «Фиброплен-Атлас 80» могут лучше стимулировать регенерацию раневых поверхностей, чем немодифицированные скаффолды, так как в данном случае как внешние, так и внутренние поверхности микроволокон внутри нитей доступны для взаимодействия с клетками, и соответственно, оно может происходить более интенсивно. При этом выбор более или менее плотных скаффолдов («Фиброплен-Атлас 80» или «Фиброплен-Газ 80» соответственно) может определяться в том числе и конкретной терапевтической или хирургической задачей в зависимости от требуемых механических свойств используемых изделий [23]. Однако экспериментальное подтверждение выдвинутых предположений о регенеративном потенциале скаффолдов

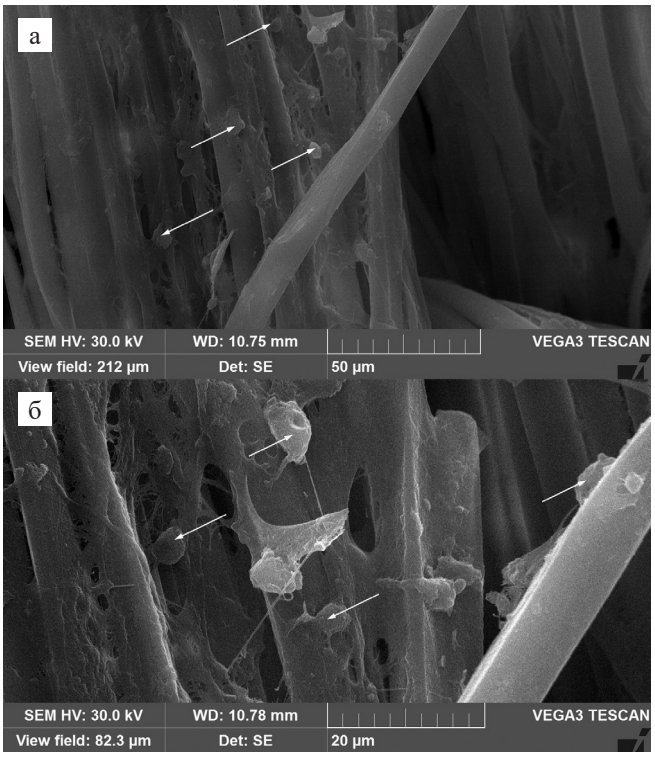


Рис. 4. СЭМ-изображение поверхности скаффолда «Фиброплен-Атлас 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток): а – ×1800; б – ×4630. стрелками указаны примеры фибробластов

Fig. 4. SEM image of the surface of the Fibroplen-Atlas 80 scaffold following 7 days of culture with mouse 3T3 fibroblasts: a – magnification ×1800; б – magnification ×4630. Arrows indicate representative of fibroblasts

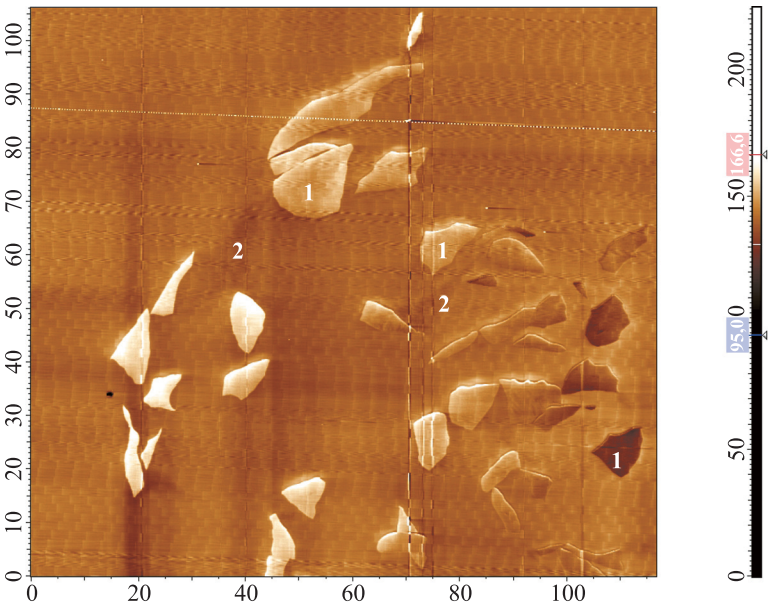


Рис. 5. СЗМ-изображение поверхности поперечного среза нити тканевого скаффолда «Фиброплен-Атлас 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток), режим топографии, размер скана 116,0×106,0 мкм, вариация высоты 70 нм. Обозначения: 1 – фиброиновые волокна; 2 – фибробласты

Fig. 5. SEM image of the cross-section of a Fibroplen-Atlas 80 tissue scaffold fiber following 7 days of culture with mouse 3T3 fibroblasts, acquired in topography mode (scan size: 116.0×106.0 μm; height variation: 70 nm). Labels: 1 – fibroin fibers; 2 – fibroblasts

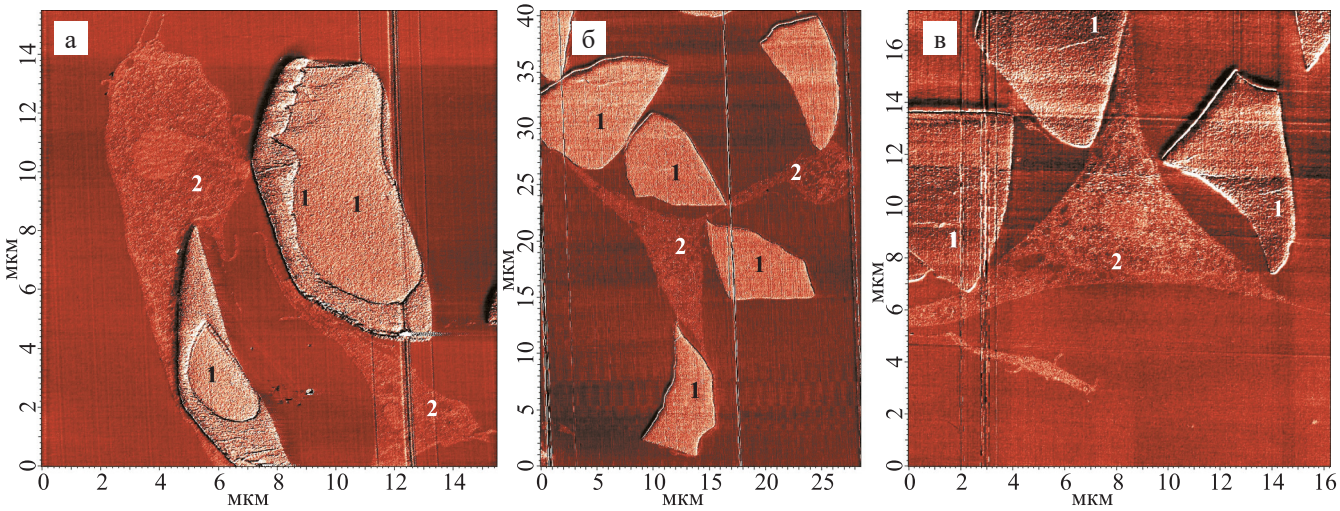


Рис. 6. СЭМ-изображения поверхности поперечного среза микроволокон тканевого скаффолда «Фиброплен-Атлас 80» с культивированными фибробластами мыши 3Т3 (срок культивирования 7 суток), режим отображения фазы: а – размер скана 15,0×15,0 мкм; б – размер скана 28,0×40,0 мкм; в – размер скана 18,0×19,0 мкм. Обозначения: 1 – фиброиновые волокна; 2 – фибробласты

Fig. 6. SEM images of the cross-sectional surface of microfibers from a Fibroplen-Atlas 80 tissue scaffold following 7 days of culture with mouse 3T3 fibroblasts, acquired in phase imaging mode: a – scan size: 15.0×15.0 μm; б – scan size: 28.0×40.0 μm; в – scan size: 18.0×19.0 μm. Labels: 1 – fibrin fibers; 2 – fibroblasts

требует проведения сравнительных экспериментов по регенерации тканей *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наноструктурный анализ фибробластов мыши 3Т3, культивированных на тканевых скаффолдах на основе натурального шелка «Фиброплен-Газ», «Фиброплен-Газ 80», «Фиброплен-Атлас» и «Фиброплен-Атлас 80», позволил получить данные о топологических и морфологических особенностях взаимодействия клеток с модифицированными и немодифицированными тканевыми скаффолдами. Взаимодействие клеток с микроволокнами внутри нитей модифицированных скаффолдов может способствовать ускорению биодеградации данных скаффолдов. Совокупность полученных наноструктурных данных и результатов клеточных экспериментов *in vitro* позволяет сделать вывод о том, что исследуемые шелковые скаффолды поддерживают адгезию клеток 3Т3 и формирование клеточно-матриксных контактов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Yıldız A, Başaran Mutlu-Ağardan N, Acartürk F.* Silk fibroin: features, production methods and medical applications. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2026; 118: 108066. doi: 10.1016/j.jddst.2026.108066.
2. *Zhang Y, Roohani I.* Recent Advances in Silk Fibroin Derived from *Bombyx mori* for Regenerative Medicine. *J Funct Biomater*. 2026; 17 (1): 12. doi: 10.3390/jfb17010012.
3. *Liu B, Li Y, Chen H, Li S, Dan X, Xue P et al.* From molecular mechanisms to clinical translation: Silk fibroin-based biomaterials for next-generation wound healing. *Int J Biol Macromol.* 2025; 313: 144266. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.144266.
4. *Manoochehrabadi T, Solouki A, Majidi J, Khosravimelal S, Lotfi E, Lin K et al.* Silk biomaterials for corneal tissue engineering: From research approaches to therapeutic potentials; A review. *Int J Biol Macromol.* 2025; 305 (Pt 1): 141039. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.141039.
5. *Liu J, Sun H, Peng Y, Chen L, Xu W, Shao R.* Preparation and Characterization of Natural Silk Fibroin Hydrogel for Protein Drug Delivery. *Molecules.* 2022; 27 (11): 3418. doi: 10.3390/molecules27113418.
6. *Hemalatha T, Aarthy M, Sundarapandiyan A, Ayyadurai N.* Bioengineered Silk Fibroin Hydrogel Reinforced with Collagen-Like Protein Chimeras for Improved Wound Healing. *Macromol Biosci.* 2025; 25 (2): e2400346. doi: 10.1002/mabi.202400346.
7. *Pashutin A, Podbolotova E, Kirsanova L, Dosi O, Efimov AE, Agapova O, Agapov I.* Silk Fibroin Microparticle/Carboxymethyl Cellulose Composite Gel for Wound Healing Applications. *Biomimetics (Basel)*. 2025; 10 (7): 434. doi: 10.3390/biomimetics10070434.
8. *Safonova L, Bobrova M, Efimov A, Lyundup A, Agapova O, Agapov I.* A Comparative Analysis of the Structure and Biological Properties of Films and Microfibrous Scaffolds Based on Silk Fibroin. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (10): 1561. doi: 10.3390/pharmaceutics13101561.
9. *Arthe R, Arivuoli D, Ravi V.* Preparation and characterization of bioactive silk fibroin/paramylon blend films for

chronic wound healing. *Int J Biol Macromol.* 2020; 154: 1324–1331. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.010.
10. *Li Y, Liu Z, Tang Y, Fan Q, Feng W, Luo C et al.* Three-dimensional silk fibroin scaffolds enhance the bone formation and angiogenic differentiation of human amniotic mesenchymal stem cells: a biocompatibility analysis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2020; 52 (6): 590–602. doi: 10.1093/abbs/gmaa042.
11. *Ye J, Xie B, Hu J, Xu X, Lu S, Wang J, Yang L.* Recent advances in silk fibroin-based biomaterials for tissue engineering applications. *Int J Biol Macromol.* 2025; 322 (Pt 2): 146764. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.146764.
12. *Efimov AE, Moisenovich MM, Bogush VG, Agapov II.* 3D nanostructural analysis of silk fibroin and recombinant spidroin 1 scaffolds by scanning probe nanotomography. *RSC Adv.* 2014; 4: 60943–60947. doi: 10.1039/c4ra08341e.
13. *Dos Santos FV, Siqueira RL, de Morais Ramos L, Yoshioka SA, Branciforti MC, Correa DS.* Silk fibroin-derived electrospun materials for biomedical applications: A review. *Int J Biol Macromol.* 2024; 254 (Pt 2): 127641. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127641.
14. *Safonova L, Bobrova M, Efimov A, Davydova L, Tenchurin T, Bogush V et al.* Silk Fibroin/Spidroin Electrospun Scaffolds for Full-Thickness Skin Wound Healing in Rats. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (10): 1704. doi: 10.3390/pharmaceutics13101704.
15. *Zhang X, Reagan MR, Kaplan DL.* Electrospun silk biomaterial scaffolds for regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009; 61 (12): 988–1006. doi: 10.1016/j.addr.2009.07.005.
16. *De Giorgio G, Matera B, Vurro D, Manfredi E, Galstyan V, Tarabella G et al.* Silk fibroin materials: biomedical applications and perspectives. *Bioengineering (Basel)*. 2024; 11 (2): 167. doi: 10.3390/bioengineering11020167.
17. *Aibibu D, Hild M, Wöltje M, Cherif C.* Textile cell-free scaffolds for *in situ* tissue engineering applications. *J Mater Sci Mater Med.* 2016; 27: 63. doi: 10.1007/s10856-015-5656-3.
18. *Pereira RFP, Silva MM, de Zea Bermudez V.* Bombyx mori silk fibers: an outstanding family of materials. *Macromol Mater Eng*. 2015; 300: 1171–1198. doi: 10.1002/mame.201400276.
19. *Fang Y, Xu L, Wang M.* High-throughput preparation of silk fibroin nanofibers by modified bubble-electrospinning. *Nanomaterials*. 2018; 8 (7): 471. doi: 10.3390/nano8070471.
20. *Агапов ИИ, Агапова ОИ, Ефимов АЕ, Соколов ДЮ, Боброва ММ, Сафонова ЛА.* Способ получения биодеградируемых скаффолдов на основе тканей из натурального шелка. Патент на изобретение RU2653428 C1, 08.05.2018. *Agapov II, Agapova OI, Efimov AE, Sokolov DYu, Bobrova MM, Safonova LA.* Sposob polucheniya biodegradiruemykh skaffoldov na osnove tkaney iz natural'nogo shelka. Patent na izobretenie RU2653428 S1, 08.05.2018.
21. *Agapov II, Podbolotova EI, Kirsanova LA, Grudinin NV, Pashutin AR, Agapova OI et al*. *In vitro* and *in vivo* Biodegradation of Silk Fabric Scaffolds. *Dokl Biol Sci*. 2025; 520 (1): 34–37. doi: 10.1134/S0012496624600519.
22. *Подболотова ЕИ, Кирсанова ЛА, Кузнецова ЕГ, Грудинин НВ, Пашутин АР, Агапова ОИ и др.* Разработка и исследование биодеградируемых тканевых скаффолдов из натурального шелка. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (2): 100–111. *Podbolotova EI, Kirsanova LA, Kuznetsova EG, Grudinin NV, Pashutin AR, Agapova OI et al.* Development and evaluation of biodegradable silk fibroin scaffolds. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (2): 100–111. doi: 10.15825/1995-1191-2025-2-100-111.
23. *Подболотова ЕИ, Пашутин АР, Грудинин НВ, Волкова ЕА, Агапова ОИ, Ефимов АЕ, Агапов ИИ.* Исследование механических и структурных свойств шелковых скаффолдов для тканевой инженерии и реконструктивной хирургии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2025; 27 (4): 125–132. *Podbolotova EI, Pashutin AR, Grudinin NV, Volkova EA, Agapova OI, Efimov AE, Agapov II.* Silk-based scaffolds for tissue engineering and reconstructive surgery: mechanical and structural properties. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (4): 125–132. (In Russ.) doi: 10.15825/1995-1191-2025-4-125-132.
24. *Alekseev A, Efimov A, Loos J, Matsko N, Syurik J.* Three dimensional imaging of polymer materials by Scanning Probe Tomography. *Eur Polym J.* 2014; 52: 154–165. doi: 10.1016/*j*.eurpolymj.2014.01.003.
25. *Efimov AE, Agapova OI, Safonova LA, Bobrova MM, Parfenov VA, Koudan EV et al.* 3D scanning probe nanotomography of tissue spheroid fibroblasts interacting with electrospun polyurethane scaffold. *Express Polymer Letters.* 2019; 13 (7): 632–641. doi: 10.3144/expresspolymlett.2019.53.
26. *Balashov V, Efimov A, Agapova O, Pogorelov A, Agapov I, Agladze K.* High resolution 3D microscopy study of cardiomyocytes on polymer scaffold nanofibers reveals formation of unusual sheathed structure. *Acta Biomaterialia.* 2018; 68: 214–222. doi: 10.1016/j.actbio.2017.12.031.
27. *Efimov AE, Agapova OI, Safonova LA, Bobrova MM, Parfenov VA, Koudan EV et al.* Nanostructural features of contacts of fibroblasts with dual-scale biocompatible polyurethane scaffold. *Nanotechnologies in Russia.* 2016; 11: 830–834. doi: 10.1134/S1995078016060094.
28. *Tremel A, Cai A, Tirtaatmadja N, Hughes BD, Stevens GW, Landman KA et al.* Cell migration and proliferation during monolayer formation and wound healing. *Chem Eng Sci.* 2009; 64: 247–253. doi: 10.1016/j.ces.2008.10.008.
29. *Dražić S, Ralević N, Žunić J.* Shape elongation from optimal encasing rectangles. *Comput Math Appl.* 2010; 60 (7): 2035–2042. doi: 10.1016/j.camwa.2010.07.043.

Статья поступила в редакцию 9.02.2026 г.
The article was submitted to the journal on 9.02.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-128-139

ВЛИЯНИЕ АЛЛОГЕННОГО И КСЕНОГЕННОГО БИОМАТЕРИАЛОВ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ МАКРОФАГОВ *IN VITRO* И *IN VIVO*

В.Н. Павлов, А.И. Лебедева, К.В. Данилко, О.Р. Шангина

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Российская Федерация

Актуальность. Определение биосовместимых свойств биотрансплантатов является актуальной проблемой для тканевой инженерии. Продукты их деградации вызывают различные клеточные реакции, влияющие на исход заживления. Макрофаги определяют биосовместимые свойства и эффективность процесса регенерации. Задачей исследования явилось выявление особенностей клеточного состава и репертуара макрофагов, обусловленного экзогенным аллогенным и ксеногенным матриксом. **Цель:** выявление морфофункционального профиля макрофагов *in vitro* и *in vivo* после алло- и ксенотрансплантации. **Материалы и методы.** *In vitro* моноциты донора культивировали 7 суток на подложке из губчатого и суспензии диспергированного аллогенных биоматериалов из серии «Аллоплант®», изготовленных из кадаверной ткани человека. *In vivo* беспородным крысам – самцам массой 200–250 г (n = 20) подкожно вводили суспензию (10 мг) диспергированного аллогенного биоматериала (ДАБ), изготовленного из сухожилий крыс и ксеногенного биоматериала (ДКБ) из сухожилий кролика. Спустя 7 и 14 суток иссекали зону трансплантата. Проводили морфологические исследования: гистологические, иммуногистохимические (VEGF-R1, CD206, CD86, TNF-α, CD163, TGF-β, CD68, FGF-1, MMP-9, TIMP-2, HLA-DR), сканирующую электронную микроскопию. **Результаты.** *In vitro* моноциты приобретали морфологию зрелых макрофагов с фенотипом $CD68^+$, $CD206^+$, $VEGF\text{-}R^+$ и $CD86^-$, $TGF\text{-}\beta^-$, $CD163^-$, $FGF\text{-}1^-$, $MMP\text{-}9^-$, $TIMP\text{-}2^-$. *In vivo* ДАБ лизировался с высвобождением гликозаминогликанов (ГАГ), резорбировался, замещался без признаков инкапсуляции макрофагами фенотипов: M1 ($CD86^+$) и M2 ($CD206^+$ и $CD163^+$), $VEGF\text{-}R^+$ и $TNF\text{-}\alpha^+$. При этом они были $TGF\text{-}\beta^-$ и $HLA\ DR^-$ негативны. После введения ДКБ наблюдались признаки инкапсуляции биоматериала, гранулематозное воспаление, ГАГ не выявлялись. Макрофаги определялись с фенотипом M2 ($CD206^+$), $TGF\text{-}\beta^+$, $HLA\text{-}DR^+$ и $TNF\text{-}\alpha^-$, $VEGF\text{-}R^-$. **Заключение.** Видовая специфичность биоматериалов определяет фенотип макрофагов, клеточную реакцию и исход заживления. Аллобиоматериал резорбировался и замещался структурно полноценным регенератом. Макрофаги различных фенотипов – M1 и M2 – не проявляли антигенных и фиброгенных свойств, стимулировали ангиогенез. Ксенобиоматериал вызывал хроническое воспаление и инкапсуляцию. Выявлялись только M2-макрофаги с антигенными, фиброгенными свойствами.

Ключевые слова: аллогенный биоматериал, ксеногенный биоматериал, моноциты, макрофаги, цитокины, факторы роста.

EFFECTS OF ALLOGENEIC AND XENOGENEIC BIOMATERIALS ON MACROPHAGE MORPHOLOGY AND FUNCTION *IN VITRO* AND *IN VIVO*

V.N. Pavlov, A.I. Lebedeva, K.V. Danilko, O.R. Shangina

Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

Background. Determining the biocompatibility of biotransplants remains a pressing issue in tissue engineering. The degradation products of these materials elicit diverse cellular responses that ultimately influence healing outcomes. Among these responses, macrophages play a central role in regulating biocompatibility and guiding the regenerative process. **Objective:** to characterize the cellular composition and repertoire of macrophages

Для корреспонденции: Лебедева Анна Ивановна. Адрес: 450075, Уфа, ул. Рихарда Зорге, д. 67/1. Тел. (903) 351-02-07. E-mail: Jeol02@mail.ru

Corresponding author: Anna Lebedeva. Address: 67/1, Richard Sorge str., Ufa, 450075, Russian Federation. Phone: (903) 351-02-07. E-mail: Jeol02@mail.ru

induced by exogenous allogeneic and xenogeneic matrices, and to determine the morphofunctional profile of macrophages *in vitro* and *in vivo* following allogeneic and xenogeneic transplantation. **Materials and methods.** *In vitro*, donor-derived monocytes were cultured for 7 days on a substrate composed of a sponge matrix and a suspension of dispersed allogeneic biomaterials from the Alloplant® series, obtained from human cadaver tissue. *In vivo*, male outbred rats (200–250 g; n = 20) received subcutaneous injections of a suspension (10 mg) of dispersed allogeneic biomaterial (DAB) derived from rat tendons, and dispersed xenogeneic biomaterial (DXB) derived from rabbit tendons. Transplantation sites were excised at 7 and 14 days post-implantation. Morphological evaluation included histological and immunohistochemical analyses (VEGF-R1, CD206, CD86, TNF-α, CD163, TGF-β, CD68, FGF-1, MMP-9, TIMP-2, HLA-DR), as well as scanning electron microscopy. **Results.** *In vitro*, monocytes differentiated into mature macrophages exhibiting the following phenotype: $CD68^+$, $CD206^+$, $VEGF\text{-}R^+$, $CD86^-$, $TGF\text{-}\beta^-$, $CD163^-$, $FGF\text{-}1^-$, $MMP\text{-}9^-$, and $TIMP\text{-}2^-$. *In vivo*, DAB underwent lysis with the release of glycosaminoglycans (GAG), followed by resorption and replacement without evidence of encapsulation by macrophages of the following phenotypes: M1 ($CD86^+$) and M2 ($CD206^+$, $CD163^+$), as well as $VEGF\text{-}R^+$ and $TNF\text{-}\alpha^+$ expression, while remaining negative for TGF-β and HLA-DR. In contrast, DXB induced encapsulation and granulomatous inflammation, with no detectable GAG release. Macrophages in this group predominantly exhibited an M2 phenotype ($CD206^+$), with positive expression of TGF-β and HLA-DR, and negative expression of TNF-α and VEGF-R. **Conclusion.** The species specificity of biomaterials determines macrophage phenotype, cellular response, and healing outcomes. Allogeneic biomaterial was effectively resorbed and replaced by structurally complete regenerative tissue. Macrophages of both M1 and M2 phenotypes did not demonstrate antigenic or fibrogenic activity and promoted angiogenesis. In contrast, xenogeneic biomaterial elicited chronic inflammation and encapsulation, characterized by the presence of M2 macrophages with antigenic and fibrogenic properties.

Keywords: allogeneic biomaterial, xenogeneic biomaterial, monocytes, macrophages, cytokines, growth factors.

ВВЕДЕНИЕ

В области регенеративной медицины одним из направлений является использование экстраклеточного децеллюляризированного матрикса для восстановления тканей и органов. Его применяют для создания тканеинженерных конструкций в качестве скаффолдов для культивирования клеточных культур, а также как самостоятельное фармакологическое средство. В медицине используют как аллогенные, так и ксеногенные биоразлагаемые материалы на основе внеклеточного матрикса в равной степени. Ксеногенный биоматериал является распространенным и доступным, дешевым сырьем для массового производства [1]. Поэтому определение биосовместимых свойств трансплантатов представляет актуальную проблему. Продукты их биодеградации вызывают различного рода клеточные реакции, которые могут повлиять на исход заживления [2]. Макрофаги служат первой ступенью иммунной реакции в ответ на имплантацию биоматериалов, определяют их биосовместимые свойства, являются гетерогенной, мультифункциональной клеточной популяцией. Они определяют дальнейшее направление, течение каскада клеточных реакций и эффективность процесса регенерации [3].

Известно, что макрофаги подразделяются на провоспалительные (M1), неактивированные (M0) и противовоспалительные (M2) субпопуляции, которые играют разные роли в инициации и разрешении воспаления. Неактивированные («наивные», интактные) M0-макрофаги поляризуются при различных условиях, превращаясь либо в макрофаги M1, либо в макрофаги M2. Поляризация макрофагов происходит под контролем различных программ активации метаболизма аргинина в клетках [4]. Факторы, определяющие, какой путь активации будет являться доминирующим, основаны на окружающих сигналах, которым подвергаются макрофаги, и доступном пуле аргинина [5]. Фенотипически макрофаги M1 характеризуются высокой экспрессией MHC II (HLA-DR), CD80 и CD86, CD64, CD32, iNOS [6]. Кроме этого, M1 отличаются экспрессией TLR4 и TLR2, секрецией IFNγ и TNFα [7]. M1-макрофаги обеспечивают воспалительный процесс благодаря широкому спектру секретируемых ими функциональных молекул: цитокинов, факторов роста. Функционально M2-макрофаги способствуют ремоделированию тканей и отличаются сильной способностью к фагоцитозу, индуцируют фиброз, ангиогенез, васкулогенез, способствуют опухолевой прогрессии [8]. Ранозаживляющие или репаративные макрофаги составляют группу клеток, которые, как и классически активированные макрофаги, возникают в результате задействования врожденных или адаптивных сигнальных механизмов. Однако M2-клетки больше связаны с восстановлением, чем с защитой [3, 8]. Хотя заживление ран, как правило, полезно, но при нарушении регуляции активности макрофагов при заживлении ран может возникнуть фиброз ткани [9].

Роль макрофагов и их полярность, индуцированная децеллюляризированным внеклеточным матриксом различного происхождения, изучены недоста-

точно. Задачей исследования явилось определение особенностей клеточного состава, а также репертуара макрофагов в условиях различного микроокружения, обусловленного экзогенным экстрацеллюлярным матриксом аллогенного и ксеногенного происхождения. Цель исследования: определение морфофункционального профиля макрофагов *in vitro* и *in vivo* после алло- и ксенотрансплантации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Этапы проведения эксперимента включали: определение морфологических особенностей моноцитов, культивируемых на аллогенном губчатом и диспергированном экстраклеточном матриксе; проведение сравнительного анализа клеточных реакций на губчатый и диспергированный экстраклеточный матрикс и экспрессии цитокинов и ростовых факторов VEGF-R1, CD206, CD86, TNF-α, CD163, TGF-β, CD68, FGF-1, MMP-9, TIMP-2, HLA-DR через 7 и 14 суток после подкожного введения аллогенного и ксеногенного биоматериалов.

Для исследования *in vitro*: в качестве скаффолда для культивирования клеток применили аллогенные биоматериалы серии «Аллоплант®», изготовленные из волокнистой соединительной кадаверной ткани человека. Их подвергали механической и химической обработке (децеллюляризации), исходя из лабораторного регламента ТУ 9398-001-04537642-2011. Далее обработанный биоматериал замораживали до –60 °С и высушивали под вакуумом до остаточной влажности 8–10% на лиофильной установке BIOBASE BK-FD30S. Губчатый аллогенный биоматериал (ГАБМ) моделировали трепаном диаметром 0,5 см (под размер лунки 96-луночного планшета). Диспергированный аллогенный биоматериал (ДАБ) состоял из измельченных до размера 50–80 мкм частиц. Затем биоматериалы помещали в 96-луночный планшет. Стерилизацию планшетов с образцами осуществляли ионизирующим излучением дозой 1,5 Мрад (15 кГр) на радиационно-технологическом комплексе ЛУ-7-2.

Перед внесением клеток ГАБМ смачивали 150 мкл культуральной среды без сыворотки в течение 30–60 минут. ДАБ из одного флакона разбавляли 800 мкл полной культуральной среды и добавляли в лунки планшета по 30–50 мкл. Культуральная среда: RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) + 10% FBS (Capricorn, Германия) + 2% глутамина 200 мМ (Himedia, Индия).

Моноциты изолировали из 30–40 мл периферической крови донора. Кровь из пробирок с К2 ЭДТА смешивали в стерильных флаконах с фосфатным солевым буфером без кальция и магния (PBS, Биолот, Россия) в соотношении 1 : 1 по объему. Полученную суспензию наносили на поверхность слоя фиколла плотностью 1,077 (ПанЭко, Россия) и центрифугировали 30 мин при 420 g. Клетки из белого интерфазного слоя градиента фиколла аккуратно собирали и промывали дважды раствором PBS. После подсчета клеток на автоматическом счетчике (TC20, BioRad, США) смешивали их с суспензией $CD14^+$ магнитных частиц (Miltenyi Biotech's monocyte isolation kit, Bergisch Gladbach, Германия) и проводили сортировку клеток с помощью магнитного штатива. Моноциты подсчитывали на счетчике клеток TC20 и анализировали с помощью проточного цитометра (Novocyte 3000, Agilent, США) для контроля их чистоты. Чистота составила 91% $CD14^+$-клеток.

Моноциты разводили в полной культуральной среде из расчета 1000 клеток в 50 мкл и вносили на поверхность ГАБМ и ДАБ, использовали по 4 лунки для каждого материала. Длительность культивирования моноцитов на биоматериалах составила 7 суток.

Для исследований *in vivo* применяли беспородных крыс-самцов массой 200–250 г в количестве 20 голов. На одну точку исследований использовали по 5 животных. Суспензию ДАБ в количестве 10 мг вводили подкожно в область спины, предварительно разведя физиологическим раствором (n = 10). ДАБ из сухожилий крыс был порошкообразной формы. Ксенотрансплантацию крысам (n = 10) проводили диспергированным ксеногенным биоматериалом (ДКБ), изготовленным из сухожилий кролика. ДАБ и ДКБ изготавливались также согласно ТУ 9398-001-04537642-2011. Крыс содержали в пластиковых клетках при естественном освещении и температуре 22–24 °С, кормили брикетированными комбикормами. Вода подавалась без ограничений. Все манипуляции с животными были проведены в соответствии с принципами, утвержденными этическим комитетом при ФГБОУ ВО «БГМУ» Минздрава России, протокол № 63 от 22.08.2022 г. (Уфа, Россия) и установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [10]. Спустя 7 и 14 суток животных выводили из эксперимента путем передозировки ингаляционного анестетика – эфира, иссекали ткани – зону трансплантата с окружающими тканями – и подвергали морфологическому исследованию.

Для морфологического исследования кусочки ткани фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, по Хейлу (выявление суммарной фракции гликозаминогликанов). Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием светового микроскопа Leica DMD 108 (Leica, Германия) со специализированным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения.

Для электронно-микроскопического исследования с помощью установки «Fine coat ion sputter JFC

1100» (Jeol, Япония) исследуемые образцы были подвергнуты сушке. Затем в этой же установке проходило катодное напыление на исследуемую поверхность образцов токопроводящего материала. Использовали сканирующий растровый электронный микроскоп Tescan Vega-3SBH с вольфрамовым термокатодом при ускоряющем напряжении 5 кВ (Чехия).

Для иммуногистохимического исследования парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Leica, Германия). Для окрашивания использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND Polymer Refine Detection (Novocastra™, Германия).

Первичные антитела указаны в таблице.

Таблица

Перечень используемых первичных антител

List of primary antibodies used

№	Первичное антитело	Разведение	Производитель
1	VEGF-R1	1 : 100	Elabscience (КНР)
2	CD206	1 : 100	Elabscience (КНР)
3	CD86	1 : 50	Elabscience (КНР)
4	TNF-α	1 : 200	Ab clonal (США)
5	CD163	1 : 50	Ab clonal (США)
6	TGF-β	1 : 300	Ab clonal (США)
7	CD68	1 : 300	Santa cruz (США)
8	FGF-1	1 : 300	Santa cruz (США)
9	MMP-9	1 : 100	Affinity Biosciences (КНР)
10	TIMP-2	1 : 200	Santa cruz (США)
11	HLA-DR	1 : 300	Santa cruz (США)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании *in vitro* при сканировании поверхности ГАБМ выявлялись разнонаправленные пучки коллагеновых волокон первого и второго порядка. Направление волокон было разносторонним. Определялись эластические волокна в виде уплощенных лентообразных структур. На поверхности биоматериала определялись редко расположенные клетки (рис. 1, а). Поверхность моноцитов приобретала неровный вид. Цитолемма выявлялась с выраженными инвагинациями – характерной бугристой поверхностью и складками. Клетки формировали филоподии, за счет которых они были прикреплены к матриксу (рис. 1, б). Следовательно, после пересадки моноцитов на подложку из аллогенного биоматериала клетки приобретали морфологию зрелых макрофагов с изменением формы, клеточной поверхности [11].

Морфология макрофагов в условиях *in vitro* выглядела как прикрепившиеся клетки с типичной структурой: неровной инвагинированной поверх-

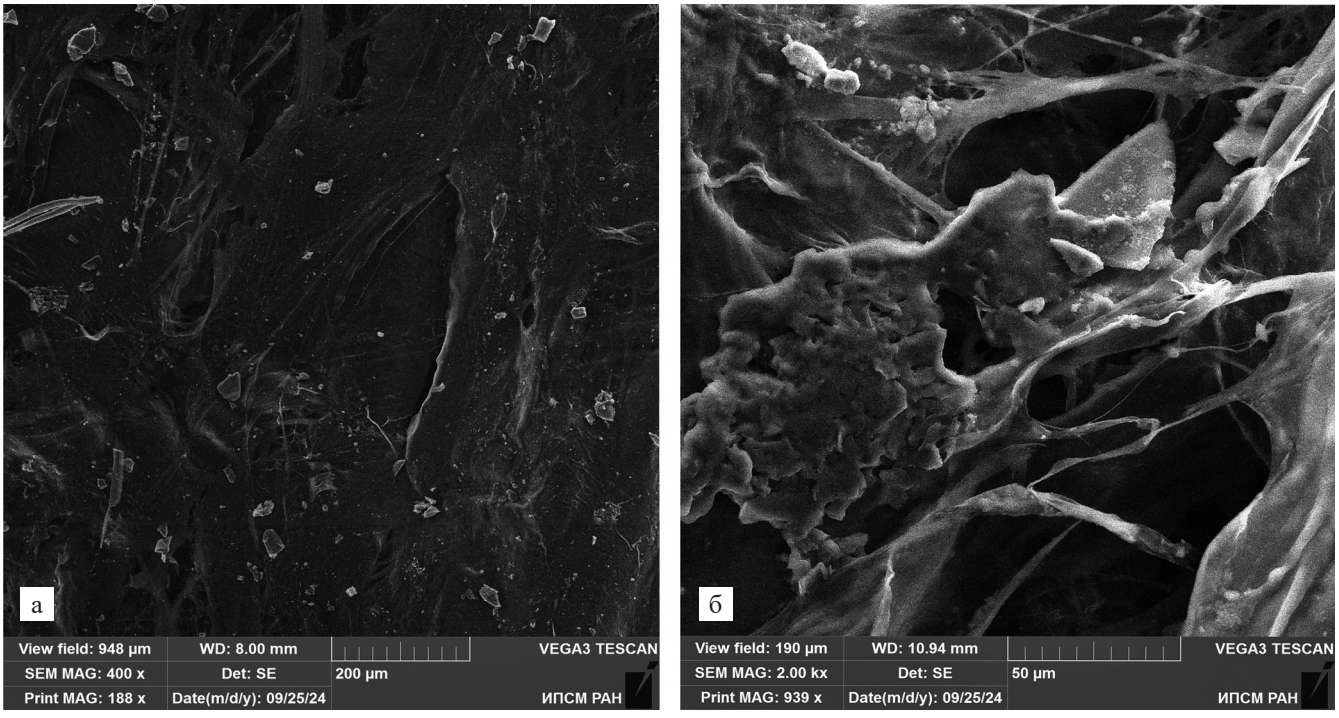


Рис. 1. Аллогенный губчатый биоматериал и моноциты: а – редкое расположение клеток на поверхности аллогенного губчатого трансплантата; б – складчатая поверхность моноцита. Электронные сканограммы

Fig. 1. Allogeneic spongy biomaterial and monocytes; a – sparse distribution of cells on the surface of the allogeneic spongy graft; б – folded surface morphology of a monocyte. Scanning electron micrographs

ностью, множественными выростами цитоплазмы и многочисленными псевдоподиями для удержания клеток на субстрате.

Моноциты после культивирования на ДАБ позитивно окрашивались на CD68, CD206, VEGF-R. Реакция с антителами CD86, TGF-β, CD163, FGF-1, MMP-9, TIMP-2 была негативной (рис. 2).

Моноциты трансформировались в макрофаги М2-популяции, т. к. были позитивны к CD68- и CD206-антигенам и экспрессировали VEGF-R. Факторы, на основании которых клетки можно было бы отнести к М1-макрофагам (CD86), отсутствовали. Профиброгенные факторы TGF-β, FGF-1, MMP-9 также были отрицательны. Следовательно, моноциты при культивировании на аллогенном биоматериале трансформировались в макрофаги с противофиброгенными свойствами и ангиогенным потенциалом.

Помимо подложки, представленной экстраклеточным матриксом, различные факторы микроокружения живого организма могут оказывать влияние на фенотип макрофагов и моделировать клеточную реакцию, которая представлена в эксперименте *in vivo*. Спустя 7 суток после подкожного введения ДАБ частицы трансплантата набухали, возле них выявлялись многочисленные макрофаги, определялись сосудистые почки – тяжи эндотелиоцитов, единичные гемокапилляры с форменными элементами крови в просветах. Стенка сосудов была тонкая, выстлана эндотелиоцитами, располагающимися на базальной мембране, перициты отсутствовали (рис. 3, а).

Через 14 суток в зоне имплантации определялась макрофагально-мезенхимная реакция, фибробластические клетки. Выявлялись многочисленные кровеносные сосуды: гемокапилляры и дифференцированные сосуды артериального и венозного русла. Стенка была выстлана эндотелиоцитами, в венозных сосудах определялся высокий эндотелий. Возле базальной мембраны располагались перициты. В просвете сосудов находились эритроциты. Явлений стаза и сладжа форменных элементов крови не наблюда-

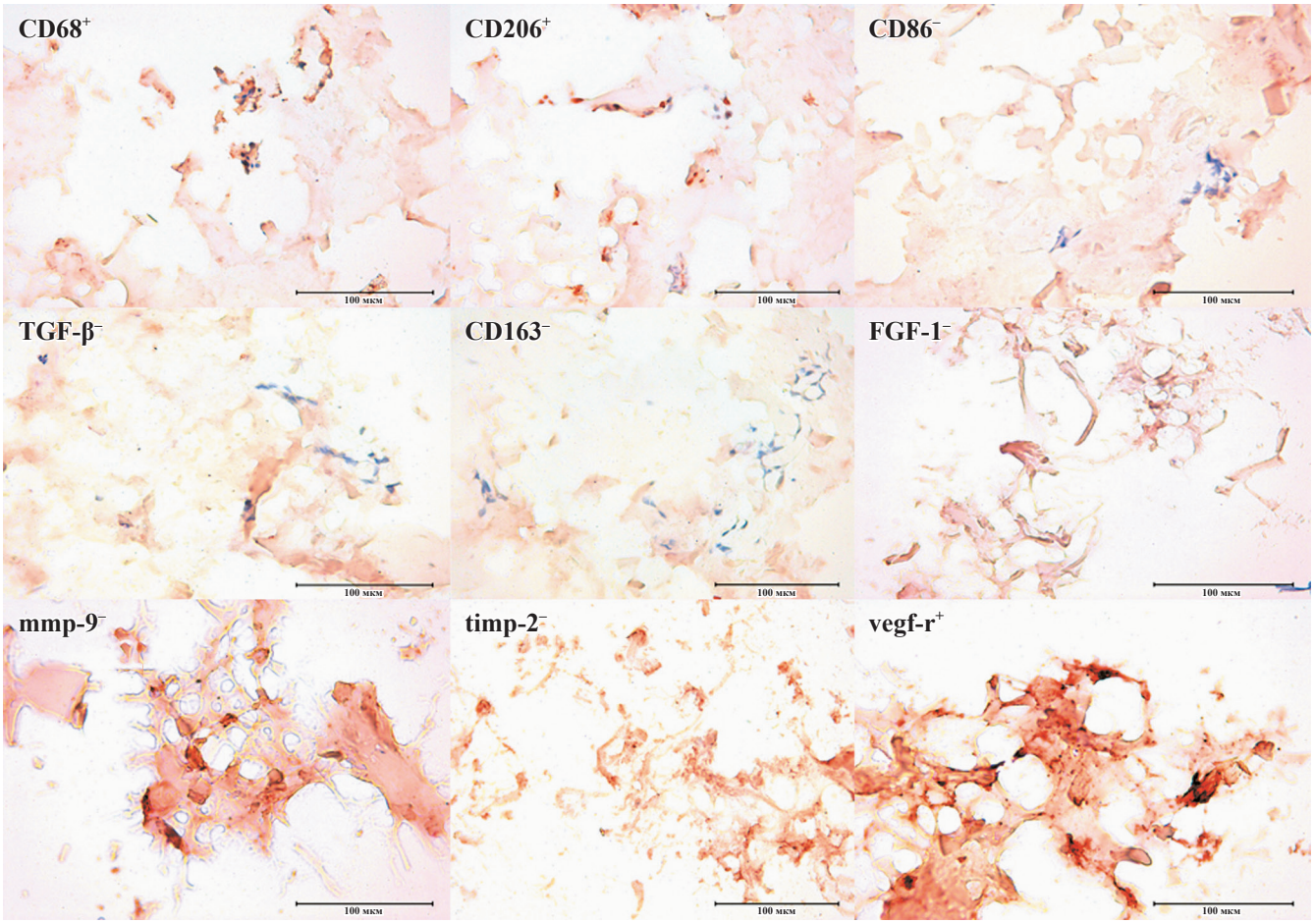


Рис. 2. Факторы роста и цитокины моноцитов, культивированных на ДАБ. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления антигенов с докраской гематоксилином на парафиновых срезах. «+» – позитивная реакция, «–» – негативная реакция

Fig. 2. Growth factors and cytokines in monocytes cultured on DAB. Indirect immunoperoxidase staining for antigen detection with hematoxylin counterstaining in paraffin-embedded sections. Positive staining is indicated by «+», and absence of staining by «–»

лось. Частицы ДАБ лизировались, резорбировались макрофагами и замещались тонкими коллагеновыми волокнами. Формировался васкуляризированный регенерат, представленный рыхлой волокнистой соединительной тканью (рис. 3, б). При окраске по Хейлу частицы ДАБ и цитоплазма макрофагов окрашивались в интенсивный синий цвет, что указывало на наличие гликозаминогликанов (ГАГ) – рис. 3, в. Частицы биоматериала подвергались набуханию и лизису со стороны макрофагов. При окраске по Ван-Гизону их тинкториальные свойства менялись, определялись признаки пикринофилии. Инкапсуляции не наблюдалось (рис. 3, г).

При оценке клеточной реакции *in vivo* в нашей работе замечено, что после аллотрансплантации в ранние сроки (7 суток) частицы биоматериала подвергались лизису, инфильтрации и резорбции макрофагами, индуцировали неоангиогенез. Сосуды прорастали со стороны окружающих тканей. Со временем определялась макрофагально-мезенхимная реакция с наличием многочисленных дифференцированных кровеносных сосудов, умеренный или неактивный коллагеногенез. Высокий эндотелий венозных сосудов указывает на признаки активации трансэндотелиальных процессов. Наличие ГАГ и их последующий синтез макрофагами в зоне регенерации связан с синтезом углеводного компонента внеклеточного матрикса, определяющего зрелость коллагеновых волокон соединительно-тканных прослоек. ГАГ создают гомеостаз в очаге замещения реактивной зоны и играют структурно-информативную роль для клеточных кооперaций [12]. С дефицитом ГАГ связывают развитие избыточного коллагеногенеза и формирование рубца. ГАГ определяют стро-

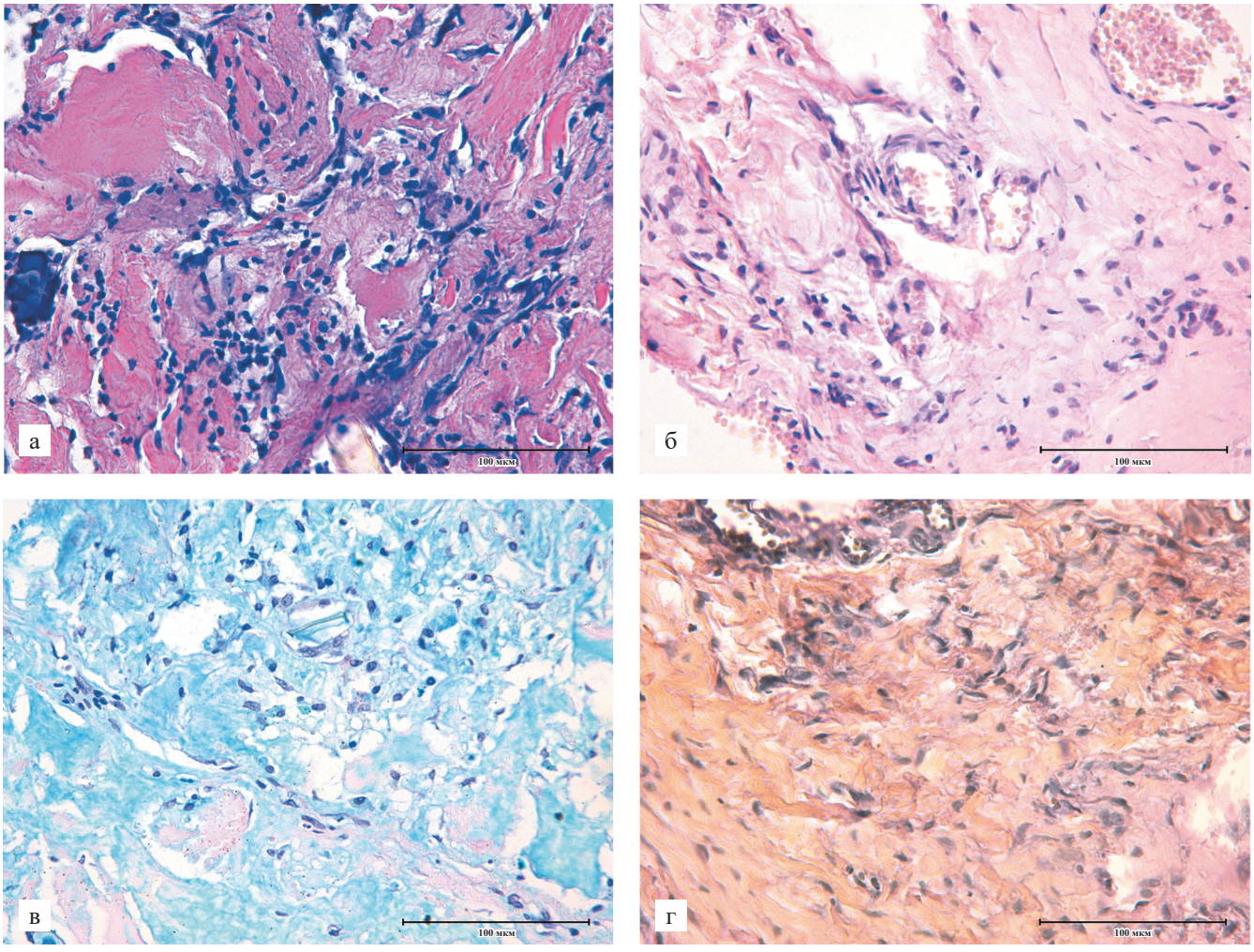


Рис. 3. Клеточная реакция вокруг частиц аллогенного биоматериала *in vivo*: а – макрофагальная реакция через 7 суток, окраска гематоксилином и эозином; б – кровеносные сосуды через 14 суток, окраска гематоксилином и эозином; в – гликозаминоглаканы через 14 суток, окраска по Хейлу; г – лизис и набухание коллагена, пикринофилия через 14 суток, окраска по Ван-Гизону

Fig. 3. Cellular response around particles of allogeneic biomaterial *in vivo*: a – macrophage response at 7 days, H&E stain; б – blood vessels at 14 days, H&E stain; в – glycosaminoglycans at 14 days, Hale's colloidal iron stain; г – lysis and swelling of collagen at 14 days, Van Gieson stain

мально-клеточные взаимодействия и эффективность заживления соединительной ткани [13]. ГАГ в составе протеогликанов соединительной ткани обеспечивают ее механические свойства, участвуют в репаративных процессах иммунного ответа, выполняют трофическую и антитоксическую функции, играют активную роль в воспалительных реакциях и других патологических состояниях. Функционально ГАГ в соединительной ткани участвуют в синтезе зрелых коллагеновых и эластиновых волокон, определяют их качественные и количественные свойства [14]. Можно предположить, что биодеградация ДАБ, выявленная в данном исследовании, заключается в высвобождении связанных ГАГ и в последующем синтезе их макрофагами.

Спустя 7 суток после подкожного введения ДКБ наблюдались признаки инкапсуляции биоматериала. По периферии введенного биоматериала формировалась плотная волокнистая соединительная ткань, представленная коллагеновыми волокнами и фибробластическими клетками, встречались лимфоциты. Макрофаги и фибробласты инфильтрировали частицы ксеноматериала, причем макрофаги образовывали многоклеточные формы (рис. 4, а).

Спустя 14 суток клеточная плотность макрофагов и фибробластов нарастала. Макрофаги трансформировались в эпителиоидные и гигантские клетки инородных тел, кровеносных сосудов не обнаруживалось, а плотные коллагеновые волокна разрастались в зоне имплантации (рис. 4, б). ГАГ практически не выявлялись (рис. 4, в). При окраске по Ван-Гизону тинкториальные свойства не изменялись, определялась фуксинофилия (рис. 4, г). Следовательно, резорбция ксенобиоматериала была затруднена.

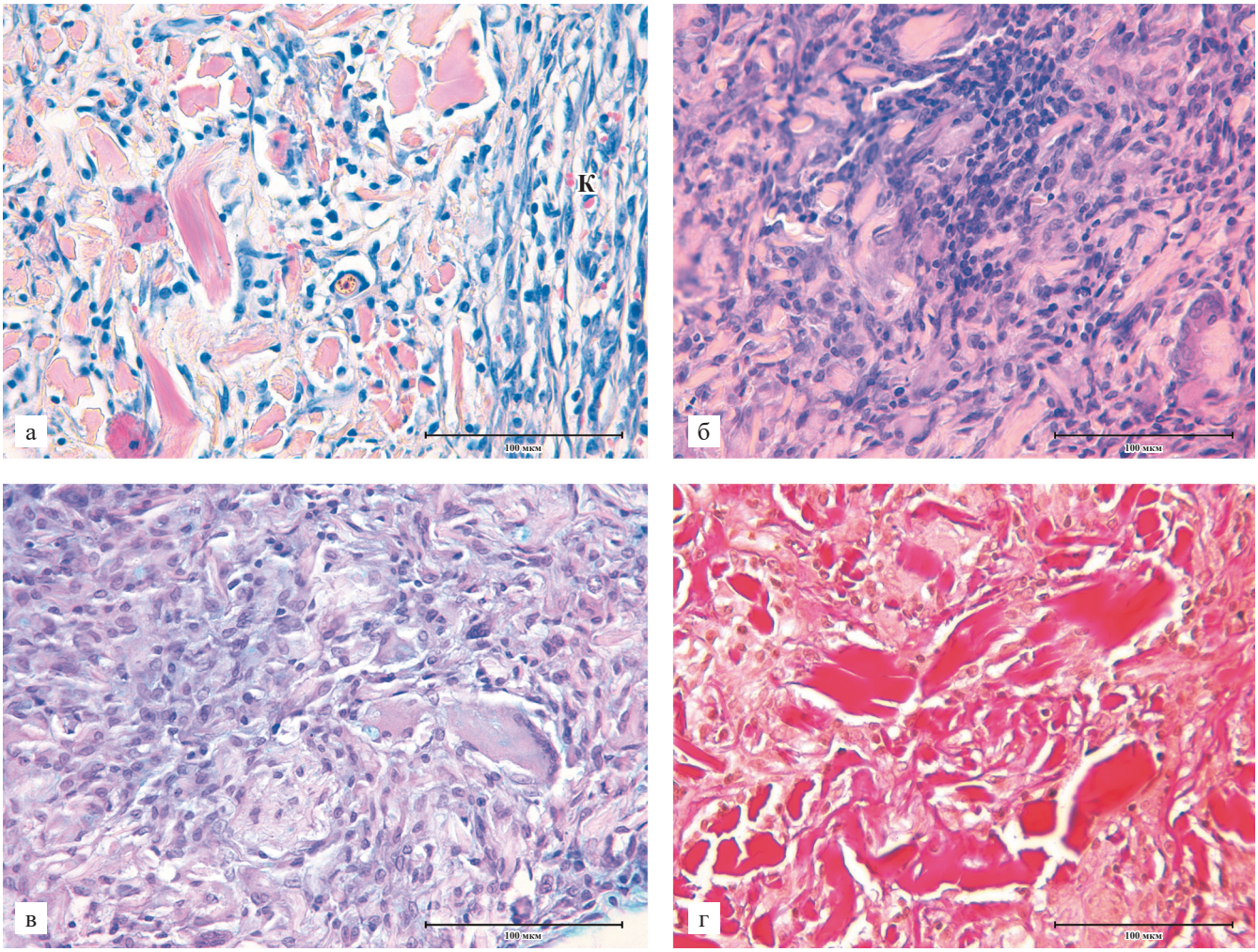


Рис. 4. Клеточная реакция после введения ксеногенного биоматериала *in vivo*: а – клеточный вал, соединительнотканная капсула (К) через 7 суток, окраска гематоксилином и эозином; б – гранулемы вокруг частиц ксеногенного биоматериала через 14 суток, окраска гематоксилином и эозином; в – отсутствие ГАГ через 14 суток, окраска по Хейлу; г – фуксинофилия частиц биоматериала через 14 суток, окраска по Ван-Гизону

Fig. 4. Cellular response following *in vivo* administration of xenogeneic biomaterial: a – cell wall, connective tissue capsule (K) at 7 days, H&E stain; б – granulomas around xenogeneic biomaterial particles at 14 days, H&E stain; в – absence of glycosaminoglycans at 14 days, Hale's colloidal iron stain; г – fuchsinophilia of biomaterial particles at 14 days, Van Gieson stain

После ксенотрансплантации макрофагальная реакция была более выражена, клетки накапливались, увеличивался объем их цитоплазмы, они сливались и формировали гигантские клетки инородных тел через стадию эпителиоидных клеток. Наряду с макрофагами мигрировали фибробластические клетки, которые проникали между частицами ксеноматериала, а также образовывали аваскулярную плотную соединительно-тканную капсулу вокруг ДКБ, чтобы ограничить трансплантат от окружающих тканей. Формировалось гранулематозное воспаление. ГАГ не обнаруживались, частицы ДКБ слабо деградировали.

Так, несмотря на выраженную макрофагальную реакцию, после алло- и ксенотрансплантации определялись радикальные различия в заживлении и интеграции биоматериалов. Выявление фенотипических свойств макрофагальных клеток может служить предиктором тканевой регенерации и осложнений.

При иммуногистохимическом исследовании ряда антигенов определялись качественные межгрупповые различия. Среди многообразия макрофагальных клеток с различной полярностью после введения ДАБ определялись CD86-макрофаги, относящиеся к М1-макрофагам, с провоспалительной активностью на протяжении 7–14 суток, в то время как после имплантации ДКБ подобные клетки не обнаруживались. М2-макрофаги (CD206) также определялись после введения ДАБ и ДКБ. CD163-макрофаги наблюдались в обоих экспериментах, но спустя 14 суток после введения ДКБ подобные клетки не обнаруживались. Клетки, позитивно окрашивающиеся к антигенам MMP-9 и их ингибиторам TIMP-2, определялись во всех видах и сроках экспериментов. Но численность MMP-9^+-клеток явно преобладала по отношению к TIMP-2^+-клеткам после имплантации ДКБ. Фактор роста TGF-β^+ в клетках после введения ДАБ не обнаруживался вовсе, в то время как после введения ДКБ подобные клетки наблюдались на протяжении всего эксперимента. TNF-α^+-клетки и VEGF-R^+-клетки определялись после введения ДАБ спустя 7 и 14 суток, а после введения ДКБ наблюдались только в начальные сроки (7 суток), через 14 суток не обнаруживались. HLA-DR^+-антиген определялся только в макрофагах, индуцированных ДКБ, во всех сроках наблюдения. Аллогенный биоматериал не стимулировал экспрессию HLA-DR в макрофагах (рис. 5).

При анализе фенотипа макрофагов выявлено, что после введения ДАБ присутствуют макрофаги обеих полярностей – М1 и М2. Наличие макрофагов М1 (CD86) сопряжено с экспрессией TNF-α, что было обнаружено в данном эксперименте. Это свидетельствует о провоспалительной направленности клеток, активации фагоцитарного процесса, резорбции и биодеградации биоматериала. Макрофаги М2 с регуляторным и противовоспалительным фенотипом сдерживают острое воспаление и способствуют заживлению, ремоделированию тканей. Об антифиброгенном действии ДАБ-индуцированных макрофагов свидетельствует отсутствие TGF-β (*in vivo* / *in vitro*) и FGF-1 (*in vivo*) антигенов. Они также высоко фагоцитарны и продуцируют компоненты внеклеточного матрикса, ангиогенные факторы VEGF-R и стимулируют рост кровеносных сосудов. Также М2-макрофаги способствуют интеграции биоматериала, а гигантские клетки инородных тел – фиброзу [15].

Известно, что индукция резидентных или мигрирующих макрофагов в очаге поражения в фенотип М2 может продлить присутствие биоматериала в ткани. Уменьшенная деградация и увеличенное количество М2 могут, кроме того, иметь профиброзный и рубцовый эффект, что нежелательно. Поэтому следует проявлять осторожность, когда речь идет о стимуляции макрофагов в фенотип М2 вокруг разлагаемых биоматериалов [16]. В целом роль макрофагов в адекватной индукции резорбции трансплантата и ремоделировании ткани может быть связана с дисбалансом между макрофагами М1 и М2.

Важной функцией всех макрофагов является захват и презентация антигена, и таким образом, связывание врожденного и адаптивного иммунитета. Макрофаги способны представлять антиген в воспаленной области и таким образом усиливать реакцию Т-лимфоцитов, уже подготовленных в лимфатических узлах [17]. Макрофаги М1 теперь рассматриваются как необходимые при начальном воспалении для правильной интеграции недеградируемых биоматериалов и желаемые для деградации деградируемых биоматериалов. С другой стороны, макрофаги М2 в настоящее время рассматриваются как желаемая [18] популяция клеток вокруг деградируемых и недеградируемых имплантатов.

Выявлено, что после введения ДКБ обнаруживались только CD206-макрофаги, из которых могут происходить гигантские клетки инородных тел [19], что и было показано в данном исследовании. Они появляются в ответ на плохо перевариваемые, макромолекулярные чужеродные материалы на границе инородных материалов [20]. Но ключевым отличительным признаком ДКБ-индуцированных макрофагов служит экспрессия на их поверхности HLA-DR [21]. HLA-DR является важным маркером макрофагов для контроля иммунологических реакций и презентации антигенов в реакциях, опосредованных Т-клетками. Это может способствовать развитию реакций гиперчувствительности замедленного действия, развитию хронического воспаления в ткани, фиброзу [22], что определено в данном эксперименте.

Природа биологического материала является ключевым фактором поляризации макрофагов.

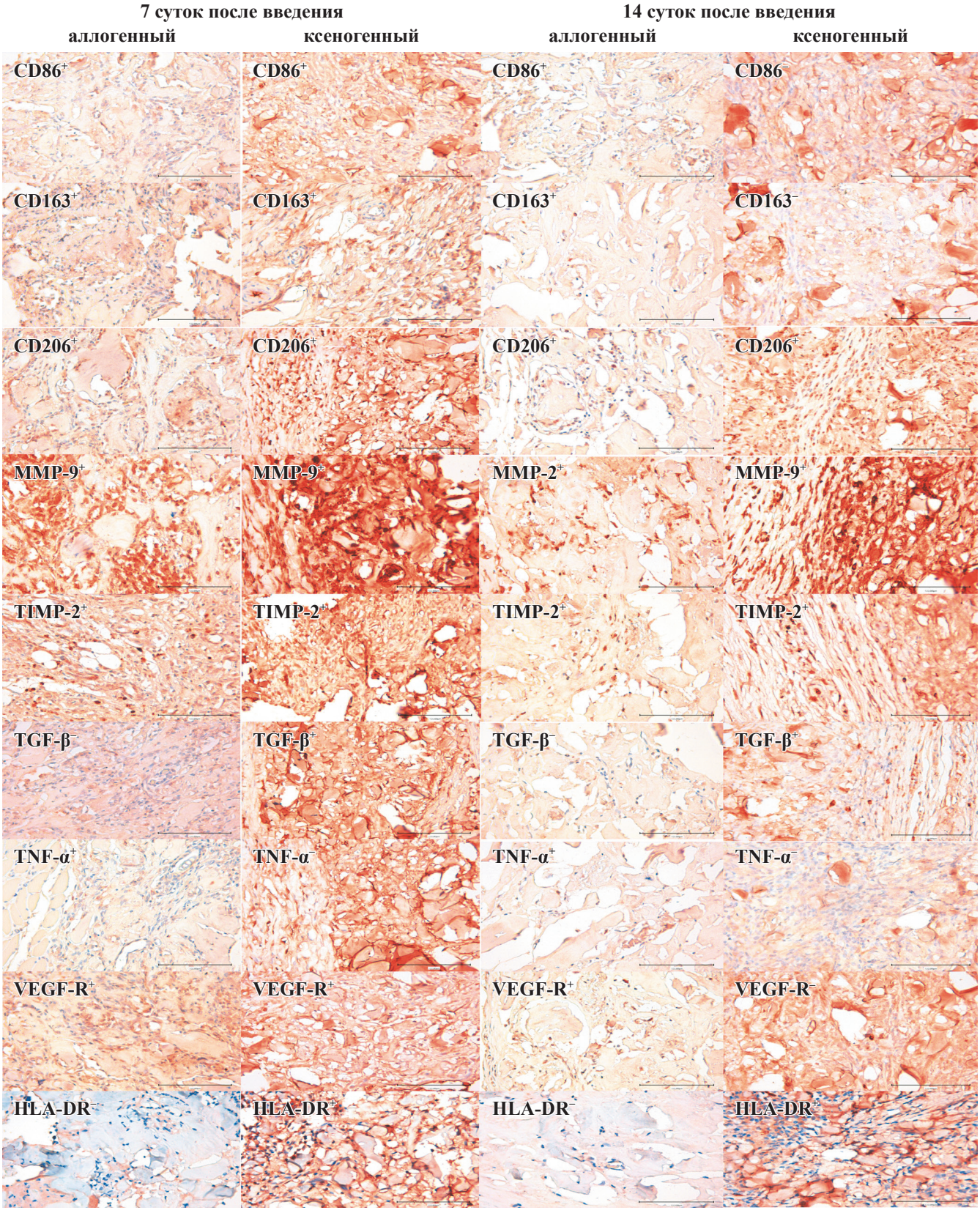


Рис. 5. Факторы роста и цитокины клеток после трансплантации ДАБ и ДКБ через 7 и 14 суток *in vivo*. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления антигенов с докраской гематоксилином на парафиновых срезах. «+» – позитивная реакция, «–» – негативная реакция

Fig. 5. Growth factors and cytokines in cells at 7 and 14 days after *in vivo* transplantation of DAB and DXB. Indirect immunoperoxidase staining for antigen detection with hematoxylin counterstaining in paraffin-embedded sections. Positive staining is indicated by «+», and absence of staining by «–»

После трансплантации аллогенного и ксеногенного внеклеточного матрикса гуманизированным мышам к месту имплантации мигрировали макрофаги М2-фенотипа и Т-хелперные клетки Th-2-фенотипа. Однако аллотрансплантация вызывала меньшую инфильтрацию $CD4^+$ Т-хелперных клеток у гуманизированных мышей по сравнению с ксеногенным внеклеточным матриксом. В ответ на аллогенный гидрогелевый материал Т-хелперные клетки также были менее поляризованы в сторону проремоделирующего Th2-фенотипа по сравнению с ксеногенными гидрогелями внеклеточного матрикса [23].

Фенотип макрофагов, индуцированный внеклеточным матриксом, ассоциируется с повышением экспрессии противовоспалительных генов и белков, снижением или подавлением экспрессии провоспалительных генов и белков, высокой способностью к презентации антигенов CD206. Фенотип макрофагов в ответ на воздействие аллогенного внеклеточного матрикса отличается от фенотипа клеток, индуцированных ИФНγ + ЛПС (классически активированные), ИЛ-4 (альтернативно активированные), ксеногенными и синтетическими матриксами [24]. Активация М2-подобных макрофагов биоматриксами на основе внеклеточного матрикса зависит от присутствия клеток Th2. Хотя точные механизмы, посредством которых внеклеточный матрикс способствует иммунному ответу типа 2, изучены лишь частично, известно, что для этого необходима деградация внеклеточного матрикса и последующее высвобождение скрытых пептидов, факторов роста и других биоактивных молекул [25].

Помимо этого, рельеф поверхности биоматериала, размерность частиц влияют на адгезию, морфологию клеток в результате их механочувствительности, которая заставляет клетки воспринимать внешние сигналы из окружения и изменять нижележащие сигнальные пути. Жесткие коллагеновые матрицы стимулируют экспрессию белков и генов IL10, IL12 и TNFα. Присутствие сульфатированных и несульфатированных ГАГ ингибирует этот эффект поляризации. Кроме того, контрольные эксперименты на 2D-матрицах подчеркивают важность использования 3D-матриц с контролируемой жесткостью, поскольку макрофаги демонстрируют обратное поляризационное поведение в зависимости от наличия ГАГ [26].

Методы обработки, используемые при изготовлении биоматериала, могут оказывать существенное влияние на профиль фенотипа макрофагов и последующие варианты ремоделирования [27]. Качество децеллюляризации ткани, возраст донора ткани и сшивание являются важнейшими параметрами, которые могут существенно повлиять на реакцию организма [28]. ДНК, митохондрии и остатки клеточных мембран в коллагеновых каркасах способствуют формированию провоспалительного фенотипа макрофагов М1 *in vivo* и *in vitro* [29]. Внеклеточный матрикс, полученный от старых доноров, изменяет свой состав [30], связан с повышенной экспрессией провоспалительной iNOS, сниженной экспрессией MHC-II и продукцией оксида азота *in vitro*, стимулирует менее выраженный проремоделирующий ответ макрофагов и подвергается фиброзу по сравнению с внеклеточным матриксом от более молодых особей [31]. Гомологичный внеклеточный матрикс превосходит аналогичный и гетерологичный, сохраняет специфические благоприятные свойства нативной ткани, однако эти свойства минимально влияют на общий процесс ремоделирования [32].

Несмотря на децеллюляризацию и стандартную обработку биоматериалов различных видов и происхождения, установлено, что существует видоспецифичность, и она обусловлена антигенностью коллагена и связанных с ним протео- и гликопротеидов, имеющих высокий молекулярный вес, специфические микроРНК, многообразные конформации, молекулярное разнообразие [33]. ГАГ обладают молекулярным распознаванием и инструктивными свойствами клеток, действующими в развитии тканей, ремоделировании и восстановлении соединительной ткани [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Макрофаги в культуре и в ткани при использовании аллогенного диспергированного биоматериала ведут себя по-разному. Существуют различия секреторной активности при культивации макрофагов из моноцитов *in vitro* и макрофагов *in vivo*. Несмотря на стандартную обработку биоматериалов, децеллюляризацию, вид ткани – различное происхождение и видовая специфичность – определяет фенотип макрофагов, клеточную реакцию и исход заживления.

In vitro после пересадки моноцитов на подложку из губчатого аллогенного биоматериала клетки приобретали морфологию зрелых макрофагов с изменением формы, клеточной поверхности. Моноциты после культивирования на диспергированном аллобиоматериале экспрессировали CD68, CD206, VEGF-R. Реакция к антителам CD86, TGF-β, CD163, FGF-1, MMP-9, TIMP-2 была негативной.

Мы впервые выявили особенности изменений состава макрофагов после алло- и ксенотрансплантации *in vivo*, показали взаимосвязь исходов заживления с фенотипическими особенностями М2-макрофагов. *In vivo* после введения аллогенного биоматериала формировался васкуляризированный регенерат, представленный рыхлой волокнистой соединительной тканью. Этому предшествовало высвобождение ГАГ из состава коллагеновых волокон биоматериала и секреция их макрофагами. Аллогенный биоматериал активно лизировался, резорбировался, замещался без признаков инкапсуляции. Выявлялись макрофаги

различных фенотипов: M1 (CD86) и M2 (CD206 и CD163). При этом были TGF-β⁻ негативны, VEGF-R и TNF-α позитивны. Они не проявляли антигенные свойства HLA-DR.

После подкожного введения ксеногенного биоматериала наблюдались признаки инкапсуляции биоматериала, развивалось гранулематозное воспаление, резорбция частиц биоматериала была затруднена, ГАГ не определялись. Макрофаги присутствовали с фенотипом M2 (CD206⁺), которые трансформировались в гигантские клетки инородных тел. Они были позитивны к TGF-β, проявляли антигенные свойства HLA-DR и негативны к TNF-α.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Zhao P, Yang F, Jia X, Xiao Y, Hua Ch, Xing M, Lyu G.* Extracellular Matrices as Bioactive Materials for In Situ Tissue Regeneration. *Pharmaceutics.* 2023; 15 (12): 2771. doi: 10.3390/pharmaceutics15122771.
2. *Rezvani GE, Nourbakhsh N, Akbari KM, Zare M, Ramakrishna S.* Collagen-based biomaterials for biomedical applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2021; 109 (12): 1986–1999. doi: 10.1002/jbm.b.34881.
3. *Piatnitskaia S, Rafikova G, Bilyalov A, Chugunov S, Akhatov I, Pavlov V, Kzhyshkowska J.* Modelling of macrophage responses to biomaterials *in vitro*: state-of-the-art and the need for the improvement. *Front Immunol*. 2024; 15: 1349461. doi: 10.3389/fimmu.2024.1349461.
4. *Xia T, Zhang M, Lei W, Yang R, Fu Sh, Fan Z et al.* Advances in the role of STAT3 in macrophage polarization. *Front Immunol.* 2023; 14: 1160719. doi: 10.3389/fimmu.2023.1160719.
5. *Wadhonkar K, Singh Y, Rughetti A, Das S, Yangdol R, Sk MH, Baig MS.* Role of cancer cell-derived exosomal glycoproteins in macrophage polarization. *Mol Biol Rep.* 2025; 52 (1): 451. doi: 10.1007/s11033-025-10535-x.
6. *Douthwaite H, Arteagabeitia AB, Mukhopadhyay S.* Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cell into Macrophages. *Bio Protocol.* 2022; 12 (6): e4361. doi: 10.21769/BioProtoc.4361.
7. *Yang Y, Liu H, Guo K, Yu Q, Zhao Y, Wang J et al.* Extracellular Vesicles from Compression-Loaded Cementoblasts Promote the Tissue Repair Function of Macrophages. *Adv Sci (Weinh).* 2024; 11 (36): e2402529. doi: 10.1002/advs.202402529.
8. *Peet C, Ivetic A, Bromage DI, Shah AM.* Cardiac monocytes and macrophages after myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2020; 116 (6): 1101–1112. doi: 10.1093/cvr/cvz336.
9. *Cheng P, Li S, Chen H.* Macrophages in Lung Injury, Repair, and Fibrosis. *Cells.* 2021; 10 (2): 436. doi: 10.3390/cells10020436.
10. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition.
11. *Волкова ОВ, Шахламов ВА, Миронов АА.* Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей, органов. М.: Медицина, 1987. *Volkova OV, Shakhlamov VA, Mironov AA.* Atlas of scanning electron microscopy of cells, tissues, and organs. Moscow: Meditsina, 1987. [In Russ, English abstract].
12. *Maloney SE, Broberg CA, Grayton QE, Samantha LP, Hall HR, Wallet ShM et al.* Role of Nitric Oxide-Releasing Glycosaminoglycans in Wound Healing. *ACS Biomater Sci Eng.* 2022; 8 (6): 2537–2552. doi: 10.1021/acsbiomaterials.2c00392.
13. *Лебедева АИ.* Регуляция паренхиматозно-стромальных взаимоотношений при коррекции дефектов скелетной мышцы аллогенным биоматериалом. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2014; 1: 51–56. *Lebedeva AI.* Regulation of parenchymatous-stromal relationships during correction of skeletal muscle defects with allogeneic biomaterial. *Experimental and Clinical Dermatocosmetology.* 2014; 1: 51–56. [In Russ, English abstract].
14. *Ricard-Blum S, Perez S.* Glycosaminoglycan interaction networks and databases. *Curr Opin Struct Biol.* 2022; 74: 102355. doi: 10.1016/j.sbi.2022.102355.
15. *Taieb M, Ghannoum D, Barré L, Ouzzine M.* Xylosyltransferase I mediates the synthesis of proteoglycans with long glycosaminoglycan chains and controls chondrocyte hypertrophy and collagen fibers organization of in the growth plate. *Cell Death Dis.* 2023; 14 (6): 355. doi: 10.1038/s41419-023-05875-0.
16. *Kawakami N, Nägerl UV, Odoardi F, Bonhoeffer T, Wekerle H, Flügel A.* Live imaging of effector cell trafficking and autoantigen recognition within the unfolding autoimmune encephalomyelitis lesion. *J Exp Med.* 2005; 201 (11): 1805–1814. doi: 10.1084/jem.20050011.
17. *Wynn TA, Chawla A, Pollard JW.* Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature.* 2013; 496 (7446): 445–455. doi: 10.1038/nature12034.
18. *Fang JY, Yang Z, Hu W, Hoang BX, Han B*. Viscoelastic BH Hydrogel Modulates Phenotype of Macrophage-Derived Multinucleated Cells and Macrophage Differentiation in Foreign Body Reactions. *J Biomed Mater Res A.* 2025; 113 (1): e37814. doi: 10.1002/jbm.a.37814.
19. *Tanneberger AM, Al-Maawi S, Herrera-Vizcaíno C, Orlowska A, Kubesch A, Sader R et al.* Multinucleated giant cells within the *in vivo* implantation bed of a collagen-based biomaterial determine its degradation pattern. *Clin Oral Investig.* 2021; 25 (3): 859–873. doi: 10.1007/s00784-020-03373-7.
20. *Lösslein AK, Lohrmann F, Scheuermann L, Gharun K, Neuber J, Kolter J et al.* Monocyte progenitors give rise to multinucleated giant cells. *Nat Commun.* 2021; 12 (1): 2027. doi: 10.1038/s41467-021-22103-5.
21. *Heppner FL, Ransohoff RM, Becher B.* Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci.* 2015; 16 (6): 358–372. doi: 10.1038/nrn3880.
22. *Wang RM, Johnson TD, He J, Rong Z, Wong M, Nigam V et al.* Humanized mouse model for assessing the human immune response to xenogeneic and allogeneic decellularized biomaterials. *Biomaterials.* 2017; 129: 98–110. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.03.016.

23. *Xu M, Su T, Jin X, Li Y, Yao Y, Liu K et al*. Inflammation-mediated matrix remodeling of extracellular matrix-mimicking biomaterials in tissue engineering and regenerative medicine. *Acta Biomater*. 2022; 151: 106–117. doi: 10.1016/j.actbio.2022.08.015.
24. *Sadtler K, Wolf MT, Ganguly S, Moad CA, Chung L, Majumdar S et al.* Divergent immune responses to synthetic and biological scaffolds. *Biomaterials*. 2019; 192: 405–415. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.11.002.
25. *Wolf MT, Ganguly S, Wang TL, Anderson CW, Sadtler K, Narain R et al.* A biologic scaffold–associated type 2 immune microenvironment inhibits tumor formation and synergizes with checkpoint immunotherapy. *Sci Transl Med*. 2019; 11 (477): eaat7973. doi: 10.1126/scitranslmed.aat7973.
26. *Friedemann M, Kalbitzer L, Franz S, Moeller S, Schnabelrauch M, Simon JC et al.* Instructing Human Macrophage Polarization by Stiffness and Glycosaminoglycan Functionalization in 3D Collagen Networks. *Adv Healthc Mater.* 2017; 6 (7): 1600967. doi: 10.1002/adhm.201600967.
27. *Badylak SF.* Decellularized Allogeneic and Xenogeneic Tissue as a Bioscaffold for Regenerative Medicine: Factors that Influence the Host Response. *Ann Biomed Eng.* 2014; 42 (7): 1517–1527. doi: 10.1007/s10439-013-0963-7.
28. *Londono R, Dziki JL, Haljasmaa E, Turner NJ, Leifer CA, Badylak SF.* The effect of cell debris within biologic scaffolds upon the macrophage response. *J Biomed Mater Res A.* 2017; 105 (8): 2109–2118. doi: 10.1002/jbm.a.36055.
29. *Tottey S, Johnson SA, Crapo PM, Reing JE, Zhang L, Jiang H et al.* The effect of source animal age upon extracellular matrix scaffold properties. *Biomaterials*. 2011; 32 (1): 128–136. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.09.006.
30. *de Souza RR.* Aging of myocardial collagen. *Biogerontology*. 2002; 3 (6): 325–335. doi: 10.1023/a:1021312027486.
31. *Keane TJ, DeWard A, Londono R, Saldin LT, Castleton AA, Carey L et al.* Tissue-specific effects of esophageal extracellular matrix. *Tissue Eng Part A.* 2015; 21 (17–18): 2293–2300. doi: 10.1089/ten.TEA.2015.0322.
32. *Hayes AJ, Melrose J.* HS, An Ancient Molecular Recognition and Information Storage Glycosaminoglycan, Equips HS-Proteoglycans with Diverse Matrix and Cell-Interactive Properties Operative in Tissue Development and Tissue Function in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (2): 1148. doi: 10.3390/ijms24021148.
33. *Huleihel L, Bartolacci JG, Dziki JL, Vorobyov T, Arnold B, Scarritt ME et al.* Matrix-Bound Nanovesicles Recapitulate Extracellular Matrix Effects on Macrophage Phenotype. *Tissue Eng Part A.* 2017; 23 (21–22): 1283–1294. doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0102.
34. *Ghatak S, Maytin EV, Mack JA, Hascall VC, Atanelishvili I, Rodriguez RM et al.* Roles of Proteoglycans and Glycosaminoglycans in Wound Healing and Fibrosis. *Int J Cell Biol*. 2015; 2015: 834893. doi: 10.1155/2015/834893.

Статья поступила в редакцию 9.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 9.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-140-151

ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И «КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ БЕЗ КЛЕТОК»

В.И. Кирпатовский[1], М.Л. Благонравов[2], А.В. Сивков[1], Ж.В. Комарова[1], Е.В. Фролова[3]

[1] Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

[2] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Москва, Российская Федерация

[3] ФГБУН «Всероссийский институт научной и технической информации Российской академии наук», Москва, Российская Федерация

Несмотря на общемировую тенденцию к возрастанию объемов помощи больным с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (ХПН), потребности в заместительной почечной терапии по-прежнему превышают возможности мировой медицины, что требует разработки инновационных методов предупреждения перехода острого повреждения почки (ОПП) в хроническую болезнь почки (ХБП) и в ее прогрессирование до ХПН. Таким направлением является использование терапии стволовыми клетками (СК), выделенными из разных тканей, или продуктами их секреции (секретомом СК). В обзоре проанализированы данные литературы о возможности стимуляции регенерации поврежденных клеточных структур с использованием клеточных технологий за счет активации адаптивных компенсаторно-приспособительных реакций и ингибирования дезадаптивных патологических реакций при разных вариантах повреждения почек. Показано, что, по данным экспериментальных исследований, терапия СК оказывает выраженный терапевтический эффект, способствуя как уменьшению и более быстрому восстановлению показателей функционального состояния почки при ОПП, так и уменьшению риска перехода ОПП в ХБП. При этом терапия секретомом СК обладает такой же эффективностью, как и самими СК. Обсуждена значимость факторов, ограничивающих эффективность клеточной терапии, и пути их преодоления.

Ключевые слова: острое повреждение почек, хроническая болезнь почек, хроническая почечная недостаточность, стволовые клетки, секретом.

THERAPEUTIC POTENTIAL OF STEM CELL AND CELL-FREE THERAPIES FOR ACUTE AND CHRONIC KIDNEY FAILURE

V.I. Kirpatovskiy[1], M.L. Blagonravov[2], A.V. Sivkov[1], Zh.V. Komarova[1], E.V. Frolova[3]

[1] Lopatkin Research Institute of Urology and Interventional Radiology, a branch of the National Medical Research Center for Radiology, Moscow, Russian Federation

[2] Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

[3] All-Russian Institute of Scientific and Technical Information, Moscow, Russian Federation

Despite the global increase in the number of patients requiring care for end-stage chronic kidney disease (CKD), the demand for renal replacement therapy continues to exceed healthcare capacity. This gap underscores the need for innovative strategies to prevent the progression of acute kidney injury (AKI) to CKD. One promising approach is stem cell (SC) therapy, involving cells derived from various tissues or their secretory products (SC secretome). This review examines current evidence on the potential of cell-based therapies to promote regeneration of damaged renal structures by enhancing adaptive and compensatory mechanisms and suppression of maladaptive responses in kidney injury. Experimental studies demonstrate that SC therapy significantly improves renal function,

Для корреспонденции: Кирпатовский Владимир Игоревич. Адрес: 127566, Москва, Северный бульвар, 19а, кв. 27. Тел. (916) 488-14-13. E-mail: vladkirp@yandex.ru

Corresponding author: Vladimir Kirpatovskiy. Address: 19a, 27, Severnyi bulvar, Moscow 127566, Russian Federation. Phone: (916) 488-14-13. E-mail: vladkirp@yandex.ru

accelerates recovery in AKI, and reduces the risk of progression to CKD. Notably, SC secretome therapy appears to be comparably effective to the use of stem cells themselves. Factors limiting the efficacy of cell therapy and potential strategies to overcome these challenges are also discussed.

Keywords: acute kidney injury, chronic kidney disease, chronic renal failure, stem cells, secretome.

В соответствии с последними статистическими данными ежегодно в мире регистрируется 13,3 млн случаев развития острого повреждения почек (ОПП) [1]. В 5–6% случаев развития ОПП возникает необходимость проведения заместительной почечной терапии, а общая летальность может достигать 58–62,6% [1, 2]. Не менее актуальна проблема лечения хронической болезни почек (ХБП). При прогрессировании ХБП до терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ХПН) необходима заместительная почечная терапия с использованием хронического диализа или трансплантации почки. Общее количество больных терминальной стадией ХПН во всем мире составляет порядка 3,9 млн человек [3]. В Российской Федерации, по данным на 2020 год, заместительную почечную терапию получали 69 547 пациентов, причем диализную терапию получают 83,5% этих пациентов [4]. В 2024 году в России выполнили 1943 трансплантации почки, что на 8,3% превышает этот показатель в 2023 году [5]. При общей мировой тенденции к возрастанию ежегодно выполняемых трансплантаций почки как наиболее оптимального метода лечения, обеспечивающего более длительную продолжительность жизни и ее качество по сравнению с диализом [6], возможности диализной и трансплантационной терапии не могут в полной мере обеспечить потребности в этих видах лечения. Во всем мире ежегодная смертность от заболеваний почек варьирует от 5 до 10 млн человек [7]. В соответствии с прогнозом World Health Organization к 2030 году смертность от ХБП может достигнуть 14 человек на 100 000 населения [8].

Представленные статистические данные свидетельствуют о необходимости разработки новых подходов к лечению заболеваний почек с целью профилактики перехода ОПП в ХБП и прогрессирования ХБП до терминальной стадии ХПН, что в перспективе может уменьшить нагрузку на диализные и трансплантационные центры. Таким активно разрабатываемым направлением является стимуляция регенерационного потенциала органов, в том числе почек, с использованием клеточной терапии, включающей как применение стволовых клеток (СК), так и продуктов их секреции («клеточной терапии без клеток»). Терапевтический потенциал такой терапии связан с активацией адаптивных компенсаторно-приспособительных клеточных реакций и ингибированием дезадаптивных процессов, ухудшающих резистентность клеток к патологическому воздействию.

МЕХАНИЗМЫ АДАПТИВНЫХ И ДЕЗАДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ОПП

Наиболее частыми причинами развития ОПП являются нефротоксическое действия ряда фармакологических препаратов, ишемическое повреждение и тяжелая инфекция. По выраженности развившихся функциональных нарушений выделяют несколько уровней тяжести ОПП: умеренную, самоограниченную, тяжелую и постоянную, которая часто прогрессирует до хронической болезни почек (ХБП) [9]. В зависимости от степени и продолжительности ОПП развившееся воспаление и фиброз могут либо привести к хронической почечной недостаточности (ХПН), либо стабилизироваться с незначительной потерей функции почек [10]. Однако статистический анализ показал, что риск развития ХБП, ХПН и других неблагоприятных последствий оказался достоверно выше у больных после перенесенного ОПП с «выздоровлением» по сравнению с пациентами, у которых ОПП не развивалось. После перенесенного ОПП лишь у 30,7% пациентов с ХБП удалось достичь восстановления уровня креатинина крови до уровня, предшествующего ОПП [11].

К репаративным механизмам, способствующим восстановлению функции поврежденных почек, относятся способность ряда клеток нефрона к регенерации при их повреждении [12, 13], в том числе за счет резидентных СК, выявленных в почке взрослого организма [14] или рекрутированных из циркулирующей крови костномозговых СК [13]. В почечных клубочках к резидентным СК относят подоциты, в частности париетальные эпителиальные клетки, расположенные в наружном слое капсулы Боумена в области сосудистого полюса клубочка [12, 15]. Другим потенциальным источником регенерации подоцитов являются ренин-продуцирующие гладкомышечные клетки клубочковых артериол – так называемые «клетки линии ренина» (КЛР), которые могут подвергаться перепрограммированию, мигрировать в капиллярную сеть клубочков и приобретать характеристики подоцитов, а также способны дифференцироваться в гладкомышечные, мезангиальные клетки, перициты и в эритропоэтин-продуцирующие клетки [15].

Регенерация почечных канальцев после их повреждения, по мнению ряда авторов, осуществляется за счет «спящих» резидентных СК, экспрессирующих маркеры CD133 и CD24, способных вступить в

цикл пролиферации для замещения утраченных эпителиальных клеток [16]. Y. Rinkevich et al. на гибридных мышах показали, что в канальцах поврежденной почки погибшие клетки замещаются пролиферирующими прогениторными клетками этого же отдела, распространяясь как по окружности канальца, так и по протяжению сегмента, но регенерирующие клетки не мигрируют в другие сегменты [17]. Также есть мнение, что полностью дифференцированные эпителиальные клетки проксимальных почечных канальцев, находящиеся в фазе G1 клеточного цикла, в случае повреждения почки могут подвергнуться де-дифференцировке с последующей пролиферацией и ре-дифференцировкой [18].

Факторами, препятствующими репаративной регенерации, являются возрастные изменения, приводящие к уменьшению количества резидентных СК [19], и торможение клеточного цикла пролиферации на стадии G2/M, что переводит регенерацию органа из физиологической в патологическую с развитием прогрессирующего фиброзирования почки [20] и развитием воспалительной реакции за счет продукции поврежденными клетками так называемых молекул, ассоциированных с опасностью (danger-associated molecular patterns – DAMPs). Эти молекулы через ряд сигнальных путей (Toll-like рецепторы – TLRs, Nod-like рецепторы и путь NLRP3) активируют продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов [21], что может в дальнейшем вести к рекрутированию клеток воспаления и фиброзированию почечной ткани [8].

Существенный вклад в прогрессирование повреждения вносит нарушение внутрипочечной микроциркуляции и эндотелиальная дисфункция. Обеднение сосудистого русла после ишемического повреждения почек может достигать 30–50% [22], в том числе за счет активации перицитов, приводящей к их трансдифференцировке в миофибробласты с экспрессией α-актина гладкомышечных клеток [23]. Следствием микрососудистых нарушений является развитие тканевой гипоксии, которая ведет к прогрессированию интерстициального фиброза и активации метаболических путей, регулируемых фактором, индуцируемым гипоксией 1 (HIF-1), что способствует переходу острого повреждения в хроническую форму [24].

Итоговый исход ОПП (восстановление функции или переход в ХБП) зависит от баланса адаптивных и дезадаптивных реакций. Определенные терапевтические воздействия могут способствовать увеличению возможностей сохранения функциональной полноценности органа.

ВОЗМОЖНОСТИ УМЕНЬШЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ОПП И РИСКА ЕГО ПЕРЕХОДА В ХБП С ПОМОЩЬЮ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Фармакологические средства разного механизма действия, используемые для лечения ОПП и предупреждения прогрессирования ХБП в силу неселективности и низкой биодоступности часто не позволяют достичь желаемого терапевтического эффекта [25]. Согласно современной стратегии, ключевым фактором терапии ОПП является разработка методов стимуляции эндогенных процессов регенерации поврежденных почечных структур и замедления фиброзирования ткани, вызванной неэффективной регенерацией клеток. Известно, что в регенерации почки важную роль играют дедифференцировка канальцевого эпителия и наличие резидентных стволовых клеток. Однако оказалось, что аналогичным эффектом обладают мезенхимные СК (МСК) внепочечного происхождения (из костного мозга, жировой ткани, пупочного канатика, амниотической жидкости, пульпы зуба и др.) [26]. Их терапевтическое действие реализуется с участием механизмов, регулирующих иммунную и воспалительную реакцию, активность апоптоза поврежденных клеток, процессы фиброзирования, а также за счет стимуляции эндогенной регенерации поврежденных клеточных структур и репаративных механизмов с участием ряда факторов роста и ангиогенных факторов [27]. В настоящее время клеточная терапия с использованием МСК рассматривается как новое терапевтическое направление лечения почечных заболеваний, учитывая способность этих низкодифференцированных клеток к разнонаправленной дифференцировке, миграции к очагу повреждения и фиксации в нем, а также паракринный эффект секретируемых этими клетками биологически активных метаболитов [28]. Опубликован целый ряд обзоров с анализом эффективности МСК, выделенных из разных тканей, и перспективности их использования для терапии ОПП и ХБП; описаны также механизмы их нефропротективного действия, в которых доказана возможность уменьшения функциональных расстройств как при ишемическом, так и при токсическом повреждении почек [7, 22, 29, 30].

В публикации L. Golle et al. [31] сообщается, что введение костномозговых МСК, а также среды их культивирования уменьшают выраженность уремии у крыс за счет восстановления нарушенной внутрипочечной микроциркуляции. Терапия МСК, выделенными из жировой ткани, уменьшает выраженность функциональных нарушения при индукции постишемической ОПН [32]. Показано, что нефропротективное действие МСК при острой постишемической почечной недостаточности реализуется через их про-

тивовоспалительное, антиоксидантное и антиапоптотическое действие [33]. Аналогичные механизмы действия МСК позволяют предотвратить переход ОПП в ХБП и прогрессирование ХБП в более тяжелые формы ХПН [34].

Положительное влияние клеточной терапии при ишемическом повреждении почек продемонстрировано и в ряде клинических исследований. В исследовании K.N. Sivanathan et al. [35] показано, что введение аутологичных культивированных МСК, выделенных из жировой ткани, 21 больному с реноваскулярной дисфункцией почек привело к улучшению степени оксигенации почек и увеличению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) при снижении экспрессии маркеров активности воспалительной реакции (TNF-α, IF-α) и концентрации маркера острого повреждения почек – липокалина. Подобные данные приводят S.C. Textor et al. [36], которые также сообщают об улучшении функции почек у больных с ишемической нефропатией после введения МСК жировой ткани на фоне увеличения почечного кровотока и снижения активности маркеров воспаления. По данным R. Cianci et al., трансплантация МСК позволяет снизить активность воспаления и затормозить прогрессирование фиброзирования ткани почки у больных с ишемической нефропатией, в том числе и у больных, у которых невозможно провести эндоваскулярную реваскуляризацию почки [37].

Клеточная терапия может оказывать выраженный терапевтический эффект и при ОПП токсической этиологии, наиболее часто причиной которого являются побочные эффекты противоопухолевых химиопрепаратов, используемых при терапии злокачественных заболеваний [38], в частности цисплатина, обладающего выраженным нефротоксическим действием. Частота развития ОПН при терапии онкологических больных этим препаратом достигает 30–46% [39]. В литературе имеются обзорные публикации о возможности профилактики нефротоксического действия цисплатина при использовании МСК различного происхождения или продуктов их секреции [13, 40]. Введение МСК крысам с индуцированной токсической ОПН, вызванной введением цисплатина в дозе 5 мг/кг, уменьшает выраженность функциональных нарушений, снижая степень возрастания уровней креатинина и мочевины в крови и уменьшая выраженность гистологических изменений в почечных канальцах; комбинация МСК с оксидом графена, используемого в качестве носителя клеток, еще больше увеличивает нефропротективный эффект терапии [41]. Также показана возможность уменьшения нефротоксического действия цисплатина при терапии МСК, выделенных из пульпы зуба человека, а также продуктами секреции этих клеток в составе среды их культивирования [42]. Введение костномозговых МСК в почку оказывало выраженый нефропротективный эффект терапии в модели цисплатин-индуцированной ОПП, что сочеталось с повышением экспрессии маркера антиапоптоза Bcl-2 при снижении экспрессии проапоптотических маркеров Bax и каспазы 3 [43]. В исследовании A. Ganguly et al. на модели нефротоксического действия цисплатина показано, что введение МСК, выделенных из костного мозга, жировой ткани или пупочного канатика, уменьшает выраженность развивающихся функциональных нарушений, причем наибольший нефропротективный эффект был получен в опытах с использованием МСК пупочного канатика, что может быть связано с более выраженной секреторной активностью этих клеток [44].

«БЕСКЛЕТОЧНАЯ» КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК

Уже более 20 лет назад было установлено, что терапевтический эффект применения стволовых клеток основан на действии секретируемого ими комплекса биологически активных соединений и трофических факторов, получивших название «секретом». Именно за счет комплекса цитокинов, факторов роста, ангиогенных факторов, микро-РНК и других компонентов реализуется антиапоптотическое, антиоксидантное, противовоспалительное, антифибротическое и иммуномодулирующее действие МСК [45]. Во многих исследованиях, где сравнивали нефропротективный эффект самих МСК и их секретома, выявили, что эффективность «бесклеточной» терапии не уступает протективному действию самих МСК [40, 46].

Поэтому вполне предсказуемо вскоре начались исследования по изучению терапевтических возможностей самого секретома без участия клеточного компонента. Это направление в регенеративной медицине получило название «клеточная терапия без клеток» (cell-free cell therapy) [47]. В настоящее время оно представляется наиболее перспективным вариантом, позволяющим избежать этических и юридических ограничений использования стволовых клеток, в том числе эмбриональных, обладающих значительно более выраженным пролиферативным и секреторным потенциалом, чем СК взрослого организма. Кроме того, это направление минимизирует такие потенциальные осложнения клеточной терапии, как иммунные реакции, эмболия или тромбоз сосудов и онкогенез [40, 46].

Источниками получения секретома СК может быть среда их культивирования, а также белково-пептидные экстракты из эмбриональных или плодных тканей, содержащих большое количество СК. Хотя многие авторы относят к понятию «секретом» только продукты секреции СК, вышедшие во внеклеточную

среду, тем не менее все они синтезируются внутри клетки, и поэтому есть точка зрения, что к этому понятию можно отнести экстракты, выделенные из тканей, богатых СК, в частности плодных и эмбриональных.

В конце XX века активно изучалась возможность использования трансплантации тканей, полученных от эмбрионов и плодов, как потенциальный метод лечения различных заболеваний, хотя в то время только начиналось изучение роли стволовых/прогениторных клеток в органогенезе и регенерации тканей. Для лечения сахарного диабета использовали трансплантацию плодной ткани поджелудочной железы и выделенных из нее островков Лангерганса, как в эксперименте, так и в клинической практике [48]. Проводились исследования по трансплантации фрагментов ткани плодной печени для стимуляции гемопоэза или коррекции метаболических нарушений, вызванных агрессивным течением гепатита В [49, 50]. В клинической практике пересаживали микрофрагменты надпочечников или участков головного мозга для лечения болезни Паркинсона [51, 52], выполняли трансплантацию ткани неонатальных яичников [53], тестикулярной ткани [54]. Однако положительный эффект такой терапии был достаточно кратковременным, что в значительной степени было связано с отторжением пересаженных тканей.

В XXI веке в связи с развитием клеточных технологий и изменением юридических норм возможности использования тканей эмбрионов и плодов интерес к тканевой трансплантации плодных тканей существенно уменьшился и сместился в направлении использования экстрактов, выделенных из плодных или эмбриональных тканей, содержащих комплекс регуляторных пептидов и низкомолекулярных белков, способных адаптивно модулировать клеточный метаболизм. Изучению эффективности терапии с использованием пептидов, выделенных из разных тканей, уделяется большое внимание как в зарубежных центрах [55], так и в России [56–58]. Разработан целый ряд препаратов, созданных на основе выделенных из тканей регуляторных пептидов и низкомолекулярных белков. Показано, что на молекулярном уровне эти соединения, составляющие активный компонент данных препаратов, взаимодействуют со специфическими сайтами ДНК и регулируют экспрессию генов. Экспрессия генома обеспечивает направленную дифференцировку стволовых/прогениторных клеток и активацию синтеза специфических белков, что стимулирует клеточную пролиферацию и оказывает антиапоптотическое и противовоспалительное действие в тропных тканях [57, 59].

Показано, что содержащиеся в секретоме СК белки, пептиды, РНК, в том числе микроРНК и липидные медиаторы, возможно выделять, концентрировать, замораживать и лиофилизировать без потери их биологической активности [60, 61], что позволяет создавать новые лекарственные средства на их основе. Разработаны фармакопейные препараты, содержащие пептиды или пептидно-белковые комплексы, выделенные из эмбриональных или плодных тканей, зарегистрированные в Российской Федерации и разрешенные для клинического использования. К таким препаратам относится везустен, являющийся комплексом полипептидов, выделенных из ткани мочевого пузыря молодых телят и используемый для терапии гиперактивного мочевого пузыря [56, 62] и последствий лучевого цистита [58]. Другим таким препаратом является целлекс – белково-пептидный комплекс, хроматографически выделенный из головного мозга эмбрионов свиньи и применяемый для коррекции неврологических нарушений у больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения [63, 64]. При этом имеются экспериментальные данные, что терапия этим препаратом оказывает нефропротективный эффект при остром ишемическом повреждении почек и ХПН [64], а также способствует уменьшению функциональных расстройств, вызванных токсическим действием химиопрепарата «Цисплатин» [65].

Данные литературы свидетельствуют, что терапия секретомом СК способствует уменьшению выраженности функциональных расстройств и ускорению восстановления функциональной полноценности почек после их ишемического или токсического повреждения [11, 40, 47, 51, 66–68].

В исследовании J.H. Kim et al. показано, что внутриартериальное введении среды культивирования СК пупочного канатика человека крысам с ОПН ускоряет восстановление всех функциональных показателей, особенно в сочетании с введением плазмы, обогащенной тромбоцитами [11]. Авторы также выделили из среды культивирования СК 5 наиболее активных белков, стимулирующих пролиферативную активность клеток и оказывающих противовоспалительный эффект (фоллистатин, uPAR, ANGPLT4, HGF, VEGF). Введение смеси этих белков крысам с ОПН оказывало такой же протективный эффект, как и полного секретома СК.

В исследовании K. Tsuji et al. продемонстрировано, что инъекция среды культивирования СК, выделенных из почки взрослого организма, в почку, подвергнутую ишемическому/реперфузионному повреждению, уменьшает выраженность морфологических изменений, апоптоз эпителиальных клеток, выраженность воспалительной реакции, а также активирует пролиферацию эпителиоцитов [66]. В опытах *in vitro* эти авторы также продемонстрировали пролиферацию культивируемых почечных клеток при добавлении среды культивирования почечных СК, а

также выявили уменьшение выраженности апоптоза клеток, индуцированного добавлением цисплатина. Также было выявлено увеличение экспрессии нестина в зрелых клетках почки, что свидетельствовало о дедифференцировке эпителиоцитов в клетки, подобные СК. В опытах *in vitro* и *in vivo*, проведенных T. Machiguchi et al., также было показано, что инкубация канальцевых эпителиальных клеток со средой культивирования МСК способствует трансформации добавленных к этой культуре МСК в зрелые эпителиоциты при сохранении морфологии этих клеток после трансплантации в подкожную клетчатку [67].

У мышей с индуцированной септической ОПН (троекратное ежедневное введение липополисахарида) введение секретома МСК в дозах 150, 300 и 600 мкл/20 г массы тела приводило к дозозависимому снижению маркеров воспалительной реакции (NF-κB, MMP-9, С-реактивный белок) и маркера повреждения почек (NGAL), а также к менее выраженным гистологическим изменениям в почках в виде воспалительной инфильтрации, канальцевого некроза и интерстициальных кровоизлияний [68].

Также имеются сообщения, что секретом МСК может восстанавливать функциональное состояние почек не только при остром повреждении почек, но и при ХПН [69]. В опытах на крысах с удалением 5/6 массы почечной паренхимы в комбинации с введением ингибитора синтазы оксида азота L-NNA и гипернатриевой диетой через 6 недель получали функциональные изменения, характерные для ХПН. На этом фоне введение концентрированной в 25 раз среды культивирования МСК дважды в день в течение 4 суток приводило к возрастанию СКФ и эффективного почечного плазмотока на фоне снижения ранее повышенного артериального давления и протеинурии. При гистологическом исследовании выявляли уменьшение гломерулосклероза и дистрофии эпителия почечных канальцев.

В последние годы широко изучается терапевтическая значимость производных секретома в виде экзосом, внеклеточных везикул и выделенных из них микро-РНК. Публикуется все больше работ, в том числе и клинических исследований, свидетельствующих, что эти компоненты секретома МСК также оказывают выраженное терапевтическое действие при лечении острых и хронических заболеваний почек, не уступающее действию самих МСК [13, 40, 70].

В обзоре M. Quaglia et al. [71] показано, что терапия внеклеточными везикулами МСК разных видов в экспериментально вызванной ОПН разной этиологии (ишемия, токсическое действие фармпрепаратов, септический шок) способствует уменьшению выраженности воспалительной реакции и последующего склерозирования паренхимы почки, что уменьшает риск перехода ОПП в ХПН. Это реализуется за счет их способности модулировать сигнальные пути, регулирующие активность воспалительной реакции, апоптоза, фиброзирование ткани и микрососудистое ремоделирование, что положительно влияет на восстановление нарушенной функции почки, вызванной разными этиологическими факторами в эксперименте [72].

На модели постишемической ОПН показано, что терапия МСК-экзосомами уменьшает выраженность клеточного повреждения за счет подавления экспрессии провоспалительных факторов (IL-6, TNF-α, NF-κB, IFN-γ) [73], а также апоптоза эпителия почечных канальцев [33]. Аналогичный эффект выявлен в культивируемых образцах ткани почек больных с ОПН [74]. В исследовании S.W. Lim et al. на модели ишемического/реперфузионного повреждения почек у мышей также показано, что введение экзосом, выделенных из индуцированных плюрипотентных МСК человека, сглаживает такие типичные для ОПН изменения, как рост креатинина крови, развитие острого канальцевого некроза, апоптоза эпителиальных клеток, продукция провоспалительных цитокинов и маркеров оксидантного стресса [75]. При этом выраженность нефропротективного эффекта оказалась такой же, как и при введении самих индуцированных плюрипотентных МСК. Аналогичный нефропротективный эффект экзосом, выделенных из МСК жировой ткани, выявлен при септическом варианте ОПН [76].

T. Song et al. установили, что терапия внеклеточными везикулами МСК может быть эффективным методом лечения не только ОПП, но и ХБП, причем ключевым фактором является активация ими противовоспалительных М2-макрофагов и регуляторных Т-лимфоцитов [77]. Также установлено влияние внеклеточных везикул на рецепторы инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1): повышение экспрессии мРНК этих рецепторов в клетках эпителия почечных канальцев, которое сопровождается усилением синтеза IGF-1 [61, 76]. В другом исследовании также показали, что введение экзосом из костномозговых МСК предотвращало прогрессирование ХБП за счет подавления воспаления и клеточной дегенерации [78].

СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ СК И ИХ СЕКРЕТОМОМ

Имеется ряд факторов, ограничивающих эффективность как самих СК, так и секретома СК, основными из которых являются низкий хоуминг системно введенных клеток, их приживляемость в органе-мишени, снижение паракринного эффекта в неблагоприятном для этих клеток микроокружении, а также быстрая деградация продуктов секреции СК в тканях [79, 80].

Установлено, что при внутривенном введении СК большинство введенных клеток фиксируется в легких, печени и лишь относительно небольшая доля СК достигает почек [81], а увеличение вводимой клеточной массы приводит к возрастанию риска развития эмболии и тромбоза сосудов [82]. Внутриартериальное введение СК повышает доставку клеток органу-мишени, но увеличивает риск тромбоза [83]. Локальное введение СК непосредственно в почку представляется наиболее оправданным, способствуя максимальной доставке и приживлению клеток, хотя и является наиболее инвазивным [84]. Такой же подход предлагают для терапии секретомом СК и его компонентами, вводя их непосредственно в почку, что повышает биодоступность активных компонентов секретома [31, 83, 85].

Ограничением для использования среды культивирования СК является необходимость ее концентрирования (до 25–50-кратного) или введения в больших дозах для достижения желаемого эффекта [69, 86]. Имеются публикации об отсутствии терапевтического эффекта неконцентрированной среды культивирования СК при внутривенном введении, что может быть связано с потерей биологической активности компонентов секретома за счет разведения при введении в кровоток и короткого полупериода жизни после инъекции [87].

Даже при введении СК непосредственно в почку их паракринное действие, опосредуемое секретируемыми сигнальными молекулами, ограничивается коротким периодом выживания введенных клеток, также как и коротким периодом жизни продуктов клеточной секреции [88].

Для преодоления этих ограничений разрабатываются методы обеспечения контролируемого продолжительного выделения компонентов секретома и их доставки органам-мишеням. Такой эффект может быть достигнут путем заключения СК или секретома этих клеток в гелевую субстанцию различного состава, как из натуральных полимеров (агароза, альгинат, хитозан, гиалуроновая кислота, желатин, фибрин, коллаген) [89], так и синтетического происхождения (полиэтиленгликоль, поливинилалкоголь и поли-2-метил-метакрилат) [90]. Также изучаются смешанные варианты гелевых композиций, причем гибридные композиции демонстрируют наиболее выраженный нефропротективный эффект [91, 92].

Гидрогели являются соединениями с физически или химически обусловленными перекрестными связями полимерных макромолекул, образующих пористую сеть с большим содержанием воды, которая может действовать как имитатор внеклеточного матрикса и обеспечивать необходимые условия для поддержания жизнеспособности включенных в гель клеток и их межклеточное взаимодействие; они обеспечивают постепенное выделение секретома СК в окружающую среду [93], что способствует более полноценному восстановлению поврежденных клеточных структур и функционального состояния органа [94].

В качестве 3-мерного носителя клеток часто используют гелевые композиции на основе коллагена 1-го типа, и показано увеличение эффективности терапевтического эффекта таких композиций как при ОПП [76, 95], так и для стимуляции регенерации других органов [96].

Формирование геля путем смешивания среды культивирования СК, выделенных из почки и пупочного канатика, с плазмой, обогащенной тромбоцитами, и тромбином способствовало постепенному выделению меченых компонентов секретома в течение суток после введения геля в почку крысы, подвергнутой ишемическому/реперфузионному повреждению; это проявлялось менее выраженным ростом уровня креатинина крови в первые сутки по сравнению с введением только среды культивирования СК, плазмы, обогащенной тромбоцитами или самих СК [85].

Для повышения концентрации активных компонентов секретома СК в среде культивирования используют метод прекондиционирования клеток в условиях гипоксии. В опытах *in vitro* показано, что добавление внеклеточных везикул, выделенных из секретома МСК пупочного канатика, культивированных в условиях гипоксии, более значительно подавляет апоптоз NRK-52E-клеткок, подвергнутых токсическому действию цисплатины, чем везикулы, выделенные из МСК, культивированных в стандартных условиях [97].

С этой целью также используют добавление некоторых фармакологических средств, стимулирующих секреторную активность СК. На модели септической ОПН у мышей, вызванной введением липополисахарида, показано, что введение секретома эмбриональных МСК человека, прекондиционированных добавлением к среде культивирования триметазидина и диазоксида, существенно повышает выживаемость животных и уменьшает выраженность гистологических изменений в почках [98].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Восстановление функции почек после их острого или токсического повреждения и риск перехода ОПП в ХБП зависит от баланса адаптивных и дезадаптивных метаболических процессов в органе, влияющего на регенерацию поврежденных почечных структур. Стимуляции клеточной регенерации способствует активность резидентных или экзогенно введенных СК, секретирующих комплекс биологически активных соединений (факторы роста, цитокины, микроРНК, ангиогенные факторы и др.). Использование

этого комплекса (секретома СК) для терапии острой и хронической дисфункции почек оказывает такой же терапевтический эффект, что и терапия самими СК. Выявление возможности выделения, концентрирования и стандартизации секретома СК привело к созданию на его основе ряда фармакопейных препаратов, проходящих клиническую апробацию. Для повышения эффективности клеточной терапии и «клеточной терапии без клеток» используют ряд подходов: введение СК и секретома непосредственно в орган, обогащение секретома путем концентрирования, выделения непосредственно из эмбриональых тканей, культивирования СК в условиях гипоксии и в присутствии ряда препаратов, стимулирующих клеточную секрецию.

Представленные в обзоре данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований по использованию «клеточной терапии без клеток» с целью оценки возможности использования такого подхода в клинической практике.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ronco C, Bellomo R, Kellum JA.* Acute kidney injury. *Lancet.* 2019; 394: 1949–1964.
2. *Al-Jaghbeer M, Dealmeida D, Bilderback A, Ambrosino R, Kellum JA.* Clinical Decision Support for In-Hospital AKI. *J Am Soc Nephrol.* 2018; 29: 654–660.
3. *Jager KJ, Kovesdy C, Langham R Rosenberg M, Jha V, Zoccali C.* A single number for advocacy and communication-worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. *Nephro Dia Transplant*. 2019; 34 (11): 1803–1805.
4. *Андрусев АМ, Перегудова НГ, Шинкарев МБ, Томилина НА.* Заместительная почечная терапия хронической болезни почек 5-й стадии в Российской Федерации в 2016–2020 гг. Краткий отчет по данным Общероссийского Регистра заместительной почечной терапии Российского диализного общества. *Нефрология и диализ.* 2022; 24 (4): 555–565. *Andrusev AM, Peregudova NG, Shinkarev MB, Tomilina NA*. Kidney replacement therapy for end Stage Kidney disease in Russian Federation, 2016-2020 Russian National Kidney Replacement Therapy. Registry Report of Russian Public Organization of Nephrologists «Russian Dialysis Society». *Nephrology and Dialysis*. 2022; 24 (4): 555–565. [In Russ]. https://doi.org/10.28996/2618-9801-2022-4-555-565.
5. *Готье СВ, Хомяков СМ*. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2024 году. XVII сообщение регистра Российского трансплантологического общества. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2025; 27 (3): 8–32. *Gautier SV, Khomyakov SM*. Organ donation and transplantation in the Russian Federation in 2024. 17th Report from the Registry of the Russian Transplant Society. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (3): 8–32. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-3-8-32.
6. *Yang J, Endo Y, Munir MM, Woldesenbet S, Altaf A, Limkemannet A et al.* Waitlist Time, Age, and Social Vulnerability: Impact on the Survival Benefit of Deceased Donor Kidney Transplantation Versus Long-term Dialysis Among Patients With End-stage Renal Disease. *Transplantation.* 2025; 109 (1): e64–e74. doi: 10.1097/TP.000000000000512.
7. *Rota C, Morigi M, Imberti B.* Stem cell therapies in kidney diseases: progress and challenges. *Int J Mol Sci.* 2019; 20: 2790. https://doi.org/10.3390/ijms20112790.
8. *Wang Z, Zhang C.* From AKI to CKD: maladaptive repair and the underlying mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (18): 10880.
9. *Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders HJ.* Acute kidney injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2021; 7: 52.
10. *Puthumana J. Thiessen-Philbrook H, Xu L, Coca SG, Garg AX, Himmelfarb J et al.* Biomarkers of inflammation and repair in kidney disease progression. *J Clinl Invest.* 2021; 131 (3): e139927. doi: 10.1172/JCI139927.
11. *Kim CS, Bae EH, Ma SK, Kweon SS, Kim SW.* Impact of Transient and Persistent Acute Kidney Injury on Chronic Kidney Disease Progression and Mortality after Gastric Surgery for Gastric Cancer. *PLoS One.* 2016; 11: e0168119.
12. *Кирпатовский ВИ, Соколов МА, Рабинович ЭЗ, Сивков АВ.* Клеточные и гуморальные механизмы регенерации почки. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2017; 2: 102–111. *Kirpatovskiy VI, Sokolov MA, Rabinovich EZ, Sivkov AV*. Cellular and humoral mechanisms of renal regeneration. *Experimental & Clinical Urology*. 2017; 2: 102–111. [In Russ, English abstract].
13. *Huang J, Kong Y, Xie C, Zhou L.* Stem/progenitor cell in kidney: characteristics, homing, coordination, and maintenance. *Stem Cell Res Ther*. 2021; 12 (1): 197. doi: 10.1186/s13287-021-02266-0.
14. *Suzuki E, Fujita D, Takahashi M, Oba S, Nishimatsu H.* Adult stem cells as a tool for kidney regeneration. *World J Nephrol.* 2016; 5 (1): 43–52. doi: 10.5527/wjn.v5.i1.43.
15. *Shankland SJ, Pippin JW, Duffield JS.* Progenitor cells and podocyte regeneration. *Semin Nephrol.* 2014; 34 (4): 418–428. doi: 10.1016/j.semnephrol.2014.06.008.
16. *Angelotti ML, Ronconi E, Ballerini L, Peired A, Mazzinghi B, Sagrinati C et al.* Characterization of renal progenitors committed toward tubular lineage and their regenerative potential in renal tubular injury. *Stem Cells.* 2012; 30 (8): 1714–1725. doi: 10.1002/stem.1130.
17. *Rinkevich Y, Montoro DT, Contreras-Trujillo H, Harari-Steinberg O, Newman AM, Tsai JM et al*. *In vivo* clonal analysis reveals lineage-restricted progenitor characteristics in mammalian kidney development, maintenance,

and regeneration. *Cell Rep*. 2014; 7: 1270–1283. doi: 10.1016/j.celrep.2014.04.018.
18. *Kusaba T, Lalli M, Kramann R, Kobayashi A, Humphreys BD.* Differentiated kidney epithelial cells repair injured proximal tubule. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111 (4): 1527–1532. doi: 10.1073/pnas.1310653110.
19. *Miya M, Maeshima A, Mishima K, Sakurai N, Ikeuchi H, Kuroiwa T et al.* Age related decline in label-retaining tubular cells: implication for reduced regenerative capacity after injury in the aging kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2012302 (6): F694–F702. doi: 10.1152/ajprenal.00249.201.
20. *Geng H, Lan R, Singha PK, Gilchrist A, Weinreb PH, Violette SM et al.* Lysophosphatidic acid increases proximal tubule cell secretion of profibrotic cytokines PDGF-B and CTGF through LPA2- and Galphaq-mediated Rho and alphavbeta6 integrin-dependent activation of TGF-beta. *Am J Pathol.* 2012, *181*, 1236–1249.
21. *Vanden Berghe T, Linkermann A, Jouan-Lanhouet S, Walczak H, Vandenabeele P.* Regulated necrosis: The expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014; *15*: 135–147.
22. *Zuk A, Bonventre JV.* Acute Kidney Injury. *Annu Rev Med.* 2016; 67: 293–307.
23. *Fligny C, Duffield JS.* Activation of pericytes: recent insights into kidney fibrosis and microvascular rarefaction. *Curr Opin Rheumatol.* 2013; 25 (1): 78–86. doi: 10.1097/BOR.0b013e32835b656b.
24. *Ullah MM, Basile DP.* Role of renal hypoxia in the progression from acute kidney injury to chronic kidney disease. *Seminars in nephrology. – WB Saunders*. 2019; 39 (6): 567–580.
25. *Xu Y, Zou P, Cao X.* Advances in pharmacotherapy for acute kidney injury. *Expert Opin Pharmacother.* 2022; 23 (6): 713–726. doi: 10.1080/14656566.2022.2050214.
26. *Ahmadi A, Rad NK, Ezzatizadeh V, Moghadasali R.* Kidney regeneration: stem cells as a new trend. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2020; 15 (3): 263–283.
27. *Marcheque J, Bussolati B, Csete M, Perin L.* Concise Reviews: Stem Cells and Kidney Regeneration: An Update. *Stem Cells Transl Med*. 2019; 8: 82–92.
28. *Wong CY.* Current advances of stem cell-based therapy for kidney diseases. *World J Stem Cells*. 2021; 13 (7): 914–933.
29. *Liu D, Cheng F, Pan S, Liu Z.* Stem cells: a potential treatment option for kidney diseases. *Stem Cell Res Ther.* 2020; 11 (1): 249. doi: 10.1186/s13287-020-01751-2.
30. *Chen F, Chen N, Xia C, Wang H, Shao L, Zhou C, Wang J.* Mesenchymal Stem Cell Therapy in Kidney Diseases: Potential and Challenges. *Cell Transplant*. 2023; 32: 1–23. doi: 10.1177/09636897231164.
31. *Golle L, Gerth HU, Beul K, Heitplatz B, Barth P, Fobker M et al.* Bone marrow-derived cells and their conditioned medium induce microvascular repair in uremic rats by stimulation of endogenous repair mechanisms. *Sci Rep.* 2017; 7: 9444.
32. *Zhang JB, Wang X, Lu GL, Huang HS, Xu SY.* Adipose-derived mesenchymal stem cells therapy for acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion in a rat model. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2017; 44 (12): 1232–1240. doi: 10.1111/1440-1681.12811.
33. *Lee KH, Tseng WC, Yang CY, Tarng DC.* The antiinflammatory, anti-oxidative, and anti-apoptotic benefits of stem cells in acute ischemic kidney injury. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (14): 3529.
34. *Yun CW, Lee SH.* Potential and therapeutic efficacy of cell-based therapy using mesenchymal stem cells for acute/chronic kidney disease. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (7): 1619. https://doi.org/10.3390/ ijms20071619.
35. *Sivanathan KN, Coates PT.* Improving human kidney function in renovascular disease with mesenchymal stem cell therapy. *Kidney Int*. 2020; 97 (4): 655–656. doi: 10.1016/j.kint.2019.12.020.
36. *Textor SC, Abumoawad A, Saad A, Ferguson C, Dietz A.* Stem Cell Therapy for Microvascular Injury Associated with Ischemic Nephropathy. *Cells.* 2021; 10 (4): 765. doi: 10.3390/cells10040765.
37. *Cianci R, Simeoni M, Cianci E, De Marco O, Pisani A, Ferri C et al.* Stem Cells in Kidney Ischemia: From Inflammation and Fibrosis to Renal Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (5): 4631. doi: 10.3390/ijms24054631.
38. *Selamet U, Ahdoot RS, Salasnek R, Abdelnour L, Hanna RM.* Onconephrology: mitigation of renal injury in chemotherapy administration. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2024; 33 (2): 257–266. doi: 10.1097/MNH.0000000000000960.
39. *Van der Vorst MJDL, Neefjes ECW, Toffoli EC, Oosterling-Jansen JEW, Vergeer MR, Leemans CR et al.* Incidence and risk factors for acute kidney injury in head and neck cancer patients treated with concurrent chemoradiation with high-dose cisplatin. *BMC Cancer*. 2019; 19 (1): 1066.
40. *Missoum A.* Recent Updates on Mesenchymal Stem Cell Based Therapy for Acute Renal Failure. *Curr Urol*. 2020; 13 (4): 189–199. doi: 10.1159/000499272.
41. *Karimzadeh P, Foroutan T, Nafar M, Kalavati S.* Impact of Nanographene Oxide on Cisplatin Induced Acute Kidney Injury Managed by Stem Cells Therapy. *Iran J Kidney Dis*. 2023; 17 (5): 271–280. doi: 10.52547/ijkd.7472.
42. *Ranjbar E, Tavakol Afshari J, KhajaviRad A, Ebrahimzadeh-Bideskan A, Shafieian R.* Insights into the protective capacity of human dental pulp stem cells and its secretome in cisplatin-induced nephrotoxicity: effects on oxidative stress and histological changes. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2022; 34 (3): 349–356. doi: 10.1515/jbcpp-2022-0159.
43. *Abdelrahman SA, Raafat N, Abdelaal GMM, Aal SMA.* Electric field-directed migration of mesenchymal stem cells enhances their therapeutic potential on cisplatin-induced acute nephrotoxicity in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2023; 396 (6): 1077–1093. doi: 10.1007/s00210-022-02380-7.
44. *Ganguly A, Chetty S, Primavera R, Levitte S, Regmi S, Dulken BW et al.* Time-course analysis of cisplatin induced AKI in preclinical models: implications for testing

different sources of MSCs. *J Transl Med.* 2024; 22: 789. https://doi.org/10.1186/s12967-024-05439-6.

45. *Kou M, Huang L, Yang J, Chiang Z, Chen S, Liu J et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? *Cell Death Dis*. 2022; 13 (7): 580.
46. *Xia J, Minamino S, Kuwabara K, Arai S.* Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Biosci Trends*. 2019; 13 (4): 299–307. https://doi.org/10.5582/bst.2019.01226.
47. *Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider, Perez-Fernandez R.* Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int J Mol Sci.* 2017 (18): 1852. https://doi.org/10.3390/ijms1809185.
48. *Groth CG, Andersson A, Bjorken C, Gunnarsson R, Hellerström C, Lundgren G et al.* Transplantation of fetal pancreatic microfragments via the portal vein to a diabetic patient. *Diabetes.* 1980; 29 (suppl 1): 80–83.
49. *Zhu RP, Lin XY, Wang JT.* Fetal hepatocellular suspension transfusion (FHST) in the treatment of chronic active hepatitis B. *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih.* 1990; 29: 419–421.
50. *Harousseau JL, Devergie A, Lawler S, Gluckman E, Schaison G.* Implant of fetal liver in severe bone marrow aplasia. *Nouv Rev Francaise D'Hematologie.* 1980; 22 (Suppl.): 572.
51. *Hitchcock ER, Clough CG, Hughes RC, Kenny BG.* Transplantation in Parkinson's disease: stereotactic implantation of adrenal medulla and foetal mesencephalon. *Acta Neurochir Suppl (Wieni).* 1988; 46: 48–50. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9029-6_11.
52. *Савельев СВ.* Трансплантация эмбрионального головного мозга. *Архив патологии*. 1992; 54 (11): 43–46. *Saveliev SV.* Transplantation of the embryonic brain. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology.* 1992; 54 (11): 43–46. [In Russ].
53. *Carroll J, Gosden RG.* Transplantation of frozen-thawed mouse primordial follicles. *Hum Reprod*. 1993; 8 (8): 1163–1167. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a138221.
54. *Кирпатовский ИД, Дендеберов ЕС.* Способ лечения вторичного гипогонадизма. Патент на изобретение RUS № 2177735. 2002. *Kirpatovskiy ID, Dendeberov ES.* Sposob lechenija vtorichnogo gipogonadizma. Patent RUS № 2177735.2002. [In Russ].
55. *Chouaib B, Haack-Sørensen M, Chaubron F, Cuisinier F, Collart-Dutilleul PY.* Towards the standardization of mesenchymal stem cell secretome-derived product manufacturing for tissue regeneration. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (16): 12594. https://doi.org/10.3390/ijms241612594.
56. *Пушкарь ДЮ, Куприянов ЮА, Гамидов СИ, Кривобородов ГГ, Спивак ЛГ, Аль-Шукри СХ и др.* Оценка безопасности и эффективности лекарственного препарата Везустен® у пациентов с гиперактивным мочевым пузырем. *Урология.* 2022; (3): 42–51. *Pushkar DYu, Kupriyanov YA, Gamidov SI, Krivoborodov GG, Spivak LG, Al-Shukri SKh et al.* Safety and efficacy of Vesusten® for patients with overactive bladder. *Urologia.* 2022; (3): 42–51. [In Russ]. https://doi.org/10.18565/urology.2022.3.42-51.
57. *Хавинсон ВХ.* Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клиническая медицина.* 2020; 98 (3): 165–177. *Khavinson VKh*. Peptide medicines: past, present, future. *Clinical Medicine (Russian Journal)*. 2020; 98 (3): 165–177. [In Russ]. https://doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177.
58. *Цуканов АЮ, Байпакова МИ, Дорофеева ВП, Леонов ОВ, Глатко СБ, Новоселов АВ и др.* Применение пептидов мочевого пузыря крупного рогатого скота при лучевом поражении мочевого пузыря в хроническом эксперименте. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2025; 18 (1): 18–26. *Tsukanov AYu, Baypakova MI, Dorofeeva VP, Leonov OV, Glatko SB, Novoselov AV et al.* Use of cattle bladder peptides in radiation injury of the bladder in a chronic experiment. *Experimental and Clinical Urology*. 2025; 18 (1): 18–26. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-1-18-26.
59. *Хоченкова ЮА, Мачкова ЮС, Хоченков ДА, Сидорова ТА, Сафарова ЭР, Бастрикова НА и др.* Исследование механизмов действия препарата Фертивелл *in vivo*. *Урология*. 2023; (1): 60–70. *Khochenkova YuA, Machkova YuS, Khochenkov DA, Sidorova TA, Safarova ER, Bastrikova NA et al*. A study of the mechanisms of action of Fertiwell *in vivo*. *Urologiia.* 2023; (1): 60–70. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.18565/urology.2023.1.60-70.
60. *Bogatcheva NV, Coleman ME.* Conditioned medium of mesenchymal stromal cells: a new class of therapeutics. *Biochemistry (Mosc)*. 2019; 84 (11): 1375–1389. https://doi.org/10.1134/S0006297919110129.
61. *Wang SY, Hong Q, Zhang CY, Yang YJ, Cai GY, Chen XM.* miRNAs in stem cell-derived extracellular vesicles for acute kidney injury treatment: comprehensive review of preclinical studies. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10 (1): 281. https://doi.org/10.1186/s13287-019-1371-1.
62. *Покуль ЛВ, Оразов МР, Лебедева МГ.* Гиперактивный мочевой пузырь у больных после гистерэктомии. Особенности терапии регуляторными пептидами. *Женская клиника*. 2024; (2–3): 35–43. *Pokul LV, Orazov MR, Lebedeva MG.* Overactive bladder in patients after hysterectomy. Features of therapy with regulatory peptides. *Zhenskaya klinika = Women's clinic.* 2024; (2–3): 35–43. [In Russ, English abstract].
63. *Камчатнов ПР, Измайлов ИА, Соколов МА.* Результаты применения препарата Целлекс у больных с цереброваскулярными заболеваниями. *Нервные болезни.* 2018; (1): 26–30. *Kamchatnov PR, Izmajlov IA, Sokolov MA.* The results of the use of the drug Cellex in patients with cerebrovascular diseases. *Nervnie bolezni.* 2018; 1: 26–30. [In Russ].
64. *Кирпатовский ВИ, Сивков АВ, Голованов СА, Дрожжева ВВ, Самойлова СИ, Рабинович ЭЗ и др.* Профилактика развития острой постишемической почечной недостаточности с использованием белково-пептидного комплекса эмбриональной ткани. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2019; (3): 32–39.

Kirpatovskiy VI., Sivkov AV, Golovanov SA, Drozhzheva VV, Samoilova SI, Rabinovich EZ et al. Prevention of the development of acute post-ishemicrenal insufficiency using a protein-peptide complex of embryonal tissue. *Experimental and clinical urology.* 2019; (3): 32–39.

65. *Кирпатовский ВИ, Сивков АВ, Назиров МР, Ефремов ГД, Соколов МА, Комарова ЖВ и др.* Терапия белково-пептидным комплексом эмбриональных стволовых клеток как метод уменьшения нефротоксического действия химиопрепарата цисплатин. *Онкоурология*. 2025; 21 (2): 198–210. *Kirpatovskiy VI, Sivkov AV, Nazirov MR, Efremov GD, Sokolov MA, Komarova ZhV et al*. Therapy with a protein-peptide complex of embryonic stem cells as a method of reducing the nephrotoxic effect of the chemotherapy drug cisplatin. *Onkourologiya – Cancer Urology.* 2025; 21 (2): 198–210. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.17650/1726-9776-2025-21-2-198-210.
66. *Tsuji K, Kitamura S, Sang Y, Fukushima K, Wada J.* Adult kidney stem/progenitor cells contribute to regeneration through the secretion of trophic factors. *Stem Cell Res*. 2020; 46: 101865. doi: 10.1016/j.scr.2020.101865.
67. *Machiguchi T, Nakamura T*. Nephron generation in kidney cortices through injection of pretreated mesenchymal stem cell-differentiated tubular epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019; 518 (1): 141–147. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.08.022.
68. *Arifin A, Purwanto B, Indarto D, Wasita B, Sumanjar T, Pamungkasari EP, Soetrisno S.* Improvement of renal functions in mice with septic acute kidney injury using secretome of mesenchymal stem cells. *Saudi J Biol Sci*. 2024; 31 (3): 103931. doi: 10.1016/j.sjbs.2024.103931.
69. *Van Koppen A, Joles JA, van Balkom BW, Lim SK, de Kleijn D, Giles RH et al.* Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney disease. *PLoS One*. 2012; 7: e38746.
70. *Aghajani Nargesi A, Lerman LO, Eirin A.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for kidney repair: current status and looming challenges. *Stem Cell Res Ther*. 2017; 8 (1): 273.
71. *Quaglia M, Merlotti G, Colombatto A, Bruno S, Stasi A, Franzin R et al.* Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles as Potential Therapeutic Approach for Acute Kidney Injury. *Front Immuno*l. 2022; 13: 849891. doi: 10.3389/fimmu.2022.849891.
72. *Eirin A, Lerman LO*. Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles for Chronic Kidney Disease: Are We There Yet? *Hypertension*. 2021; 78 (2): 261–269. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.14596.
73. *Li L, Wang R, Jia Y, Rong R, Xu M, Zhu T.* Exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorate renal ischemic-reperfusion injury through inhibiting inflammation and cell apoptosis. *Front Med*. 2019; 6: 269.
74. *Birtwistle L, Chen XM, Pollock C.* Mesenchymal stem cell derived extracellular vesicles to the rescue of renal injury. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (12): 6596.
75. *Lim SW, Kim KW, Kim BM, Shin YJ, Luo K, Quan Y et al.* Alleviation of renal ischemia/reperfusion injury by exosomes from induced pluripotent stem CW. cell-derived mesenchymal stem cells. *Korean J Intern Med*. 2022; 37 (2): 411–424. doi: 10.3904/kjim.2020.438.
76. *Gao F, Zuo B, Wang Y, Li S, Yang J, Sun D.* Protective function of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in acute kidney injury through SIRT1 pathway. *Life Sci*. 2020; 255: 117719.
77. *Song T, Eirin A, Zhu X, Zhao Y, Krier JD, Tang H et al.*. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles induce regulatory T cells to ameliorate chronic kidney injury. *Hypertension*. 2020; 75 (5): 1223–1232.
78. *Alasmari WA, El-Shetry ES, Ibrahim D, El-Sawy NA, Eldoumani H, Metwally AS et al.* Mesenchymal stem-cells' exosomes are renoprotective in postmenopausal chronic kidney injury via reducing inflammation and degeneration. *Free Radic Biol Med*. 2022; 182: 150–159.
79. *Wechsler ME, Rao VV, Borelli AN, Anseth KS.* Engineering the MSC secretome: a hydrogel focused approach. *Adv Healthc Mater*. 2021; 10 (7): e2001948.
80. *Liu Y, Han J, Fang J, Li R.* The Beneficial Effects of Mesenchymal Stem Cells in Acute Kidney Injury: A Narrative Review. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2024; 19 (2): 200–209. doi: 10.2174/1574888X18666230206115046.
81. *Schmuck EG, Koch JM, Centanni JM, Hacker TA, Braun RK, Eldridge M et al.* Biodistribution and clearance of human mesenchymal stem cells by quantitative three-dimensional cryo-imaging after intravenous infusion in a rat lung injury model. *Stem Cells Transl Med*. 2016; 5 (12): 1668–1675.
82. *Herberts CA, Kwa MS, Hermsen HP.* Risk factors in the development of stem cell therapy. *J Transl Med*. 2011; 9: 29.
83. *Bagno LL, Salerno AG, Balkan W, Hare JM.* Mechanism of action of mesenchymal stem cells (MSCs): impact of delivery method. *Expert Opin Biol Ther*. 2022; 22 (4): 449–463.
84. *Huang M, Li D, Chen J, Ji Y, Su T, Chen Y et al.* Comparison of the treatment efficacy of umbilical mesenchymal stem cell transplantation via renal subcapsular and parenchymal routes in AKI-CKD mice. *Stem Cell Res Ther*. 2022; 13 (1): 128.
85. *Yim HE, Kim DS, Chung HC, Shing B.* Controlled Delivery of Stem Cell-Derived Trophic Factors Accelerates Kidney Repair After Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Stem Cells Transl Med*. 2019; 8: 959–970.
86. *Tarng DC, Tseng WC, Lee PY, Chiou SH, Hsieh SL.* Induced pluripotent stem cell-derived conditioned medium attenuates acute kidney injury by downregulating the oxidative stress-related pathway in ischemia-reperfusion rats. *Cell Transplant.* 2016; 25: 517–530.
87. *Abedi A, Azarnia M, Jamali Zahvarehy M, Foroutan T, Golestani S.* Effect of different times of intraperitoneal injections of human bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium on gentamicin-induced acute kidney injury. *Urol J.* 2016; 13: 2707–2716.
88. *Burst VR, Gillis M, Pütsch F, Herzog R, Fischer JH, Heid P et al.* Poor cell survival limits the beneficial im-

pact of mesenchymal stem cell transplantation on acute kidney injury. *Nephron Exp Nephrol*. 2010; 114 (3): e107–e116.
89. *Jiang Y, Wang Y, Li Q, Yu C, Chu W.* Natural polymer-based stimuliresponsive hydrogels. *Curr Med Chem*. 2020; 27 (16): 2631–2657.
90. *Unal AZ, West JL.* Synthetic ECM: bioactive synthetic hydrogels for 3D tissue engineering. *Bioconjug Chem*. 2020; 31 (10): 2253–2271.
91. *Wang H, Shang Y, Chen X, Wang Z, Zhu D, Liu Y et al.* Delivery of MSCs with a hybrid beta-sheet peptide hydrogel consisting IGF-1C domain and D-form peptide for acute kidney injury therapy. *Int J Nanomed*. 2020; 15: 4311–4324.
92. *Fu Z, Zhang Y, Geng X, Chi K, Liu C, Songet C al.* Optimization strategies of mesenchymal stem cell-based therapy for acute kidney injury. *Stem Cell Res Ther.* 2023; 14: 116: 2–16. doi: 10.1186/s13287-023-03351-2.
93. *Yap JX, Leo CP, Mohd Yasin NH, Show PL, Chu DT, Singh V et al.* Recent advances of natural biopolymeric culture scaffold: synthesis and modification. *Bioengineered*. 2022; 13 (2): 2226–2247.
94. *Jansen K, Schuurmans CCL, Jansen J, Masereeuw R, Vermonden T.* Hydrogel-Based Cell Therapies for Kidney Regeneration: Current Trends in Biofabrication and *In Vivo* Repair. *Curr Pharm Des*. 2017; 23 (26): 3845–3857. doi: 10.2174/1381612823666170710155726.
95. *Huang S, Li Y, Wang X, Ma X, Zhang X.* Injectable cogels of collagen and decellularized vascular matrix improve MSC-based therapy for acute kidney injury. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2017; 28 (18): 2186–2195.
96. *Севастьянов ВИ, Перова НВ.* Биополимерный гетерогенный гидрогель СФЕРО®гель – инъекционный биодеградируемый имплантат для заместительной и регенерационной медицины. *Практическая медицина*. 2014; 8 (84): 120–126. *Sevastianov VI, Perova NV*. Biopolimerniy geterogenniy gydrogel SFERO®gel – in'ektsionniy biodegradiruemiy implantat dlia zamestitelnoy i regeneratsioonnoy meditsine. *Prakticheskaja meditsina*. 2014; 8 (84): 120–126. [In Russ].
97. *Zhou Y, Xu H, Xu W, Wang B, Wu H, Tao Y et al.* Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against cisplatin-induced renal oxidative stress and apoptosis *in vivo* and *in vitro*. *Stem Cell Res Ther*. 2013; 4 (2): 34.
98. *Jahandideh S, Khatami S, Eslami Far A, Kadivar M.* Anti-inflammatory effects of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells secretome preconditioned with diazoxide, trimetazidine and MG-132 on LPS-induced systemic inflammation mouse model. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018; 46 (sup2): 1178–1187. doi: 10.1080/21691401.2018.1481862.

Статья поступила в редакцию 10.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 10.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-152-162

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИНТАКТНЫХ И АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО РАЗВИТИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

А.О. Никольская[1], Н.А. Онищенко[1], Е.А. Волкова[1], О.И. Степанова[2], Н.В. Баранова[1], А.С. Пономарева[1], Р.А. Клесов[2], Х.Х. Семенов[2], Н.П. Можейко[1], М.Ю. Шагидулин[1, 3], Ю.Б. Басок[1]

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

[2] ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России», Московская область, г.о. Красногорск, п. Светлые Горы, Российская Федерация

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

Цель работы: сравнить эффективность корригирующего воздействия интактных и апоптотических клеток костного мозга на разных стадиях прогрессирующего развития сахарного диабета 2-го типа (СД2). **Материалы и методы.** Опыты проведены на генетической модели СД2 (на мутантных мышах db/db, n = 52, возраст 0,5–1,0 мес. жизни). Эти мыши составили 4 группы: 1-я – контроль (n = 10); во 2-й (n = 14), 3-й (n = 14) и 4-й (n = 14) опытных группах однократно внутрибрюшинно вводили мононуклеарные клетки аллогенного костного мозга (МККМ) от здоровых доноров (n = 20) в дозе 40–45 × 10^6 клеток на разных сроках развития СД2 – на 1, 3 и 7-м месяце после рождения соответственно. В каждой опытной группе было дополнительно выделено 2 подгруппы: с применением интактных свежевыделенных МККМ (иМККМ) и апоптотических МККМ (аМККМ). аМККМ получали путем инкубации иМККМ в ионсбалансированном консервирующем растворе НТК Бредшнейдера, чтобы получить иМККМ в состоянии обратимого апоптоза. Состояние мышей db/db после введения МККМ контролировали в динамике, исследуя содержание глюкозы в крови, массу тела, состояние окислительного метаболизма, автоматически рассчитывая суммарный показатель окислительного метаболизма (ПОМ), и гистологические препараты печени. Достоверность полученных результатов оценивали статистическими методами на персональном компьютере с использованием теста Шапиро–Уилка и t-критерия Стьюдента. **Результаты.** Установлено, что аМККМ и иМККМ оказывают регуляторное воздействие на метаболизм на всех этапах развития СД2, однако мощность и эффективность воздействия аМККМ на исследуемые показатели была всегда более выраженной и находилась в прямой зависимости от значений ПОМ при введении клеток. На ранних этапах развития СД2 (на стадии адаптации – 1 мес. и стадии прогрессирующей дезадаптации – 3 мес.), когда значения ПОМ в тканях еще сохраняются на достаточно высоком уровне, иМККМ, но особенно аМККМ оказывают выраженный корригирующий эффект. На поздней стадии развития СД2 (на стадии декомпенсации метаболизма – 7 мес.), когда значения ПОМ снижаются ниже критического уровня, иМККМ, но особенно аМККМ способны усилить повреждение метаболизма и ускорить гибель животных. **Заключение.** МККМ (иМККМ и аМККМ) являются эффективным вспомогательным средством корригирующей терапии на ранних этапах развития СД2, так как развитие их терапевтического действия реализуется за счет сохранившихся стресс-адаптивных резервов в тканях организма.

Ключевые слова: клетки костного мозга, сахарный диабет 2-го типа, окислительные процессы в тканях.

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

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

COMPARATIVE EFFICACY OF INTACT AND APOPTOTIC BONE MARROW CELLS AT DIFFERENT STAGES OF TYPE 2 DIABETES PROGRESSION

A.O. Nikolskaya[1], N.A. Onishchenko[1], E.A. Volkova[1], O.I. Stepanova[2], N.V. Baranova[1], A.S. Ponomareva[1], R.A. Kleosov[2], Kh.Kh. Semenov[2], N.P. Mozheiko[1], M.Yu. Shagidulin[1, 3], Yu.B. Basok[1]

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

[2] Research Center for Biomedical Technologies, Moscow region, Krasnogorsk, Svetlye Gory village, Russian Federation

[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Objective: to compare the therapeutic efficacy of intact and apoptotic bone marrow mononuclear cells (BMMCs) at different stages of type 2 diabetes mellitus (T2D) progression. **Materials and methods.** The study was conducted using a genetic model of T2D in db/db mice (n = 52; age 0.5–1.0 months). Animals were divided into four groups: control (n = 10) and three experimental groups (n = 14 each), which received allogeneic BMMCs from healthy donors at a dose of 40–45 × 10^6 cells at different stages of disease progression (1, 3, and 7 months of age). Each experimental group was further subdivided into two subgroups: one receiving freshly isolated intact BMMCs (iBMMCs) and the other apoptotic BMMCs (aBMMCs). Apoptotic cells were obtained by incubating intact cells in Bradschneider's ion-balanced preservative solution to induce reversible apoptosis. Outcomes were assessed by measuring blood glucose levels, body weight, total oxidative metabolism index (TOM), and histological liver changes. Reliability of the results was assessed using statistical methods on a personal computer, employing the Shapiro–Wilk test and the Student's t-test. **Results.** Both iBMMCs and aBMMCs demonstrated regulatory effects on metabolism at all stages of T2D progression; however, apoptotic BMMCs showed consistently greater efficacy. The therapeutic effect was directly associated with baseline tissue oxidative metabolism (TOM) levels at the time of administration. In early stages (adaptation at 1 month and progressive maladaptation at 3 months), when TOM levels remained relatively high, both cell types, particularly apoptotic BMMCs, produced pronounced corrective effects. In contrast, in the late stage (metabolic decompensation at 7 months), when TOM levels dropped below a critical threshold, iBMMCs, but especially aBMMCs, aggravated metabolic damage and increased animal mortality. **Conclusion.** Intact and apoptotic BMMCs may serve as effective adjunctive therapy in the early stages of T2D, with their therapeutic efficacy dependent on the body's preserved stress-adaptive reserves in tissues.

Keywords: bone marrow cells, type 2 diabetes, tissue oxidative processes.

ВВЕДЕНИЕ

Заболеваемость сахарным диабетом (СД) в современном мире уже приобрела характер пандемии и стала серьезной медико-социальной проблемой во многих странах, в том числе и в России. По прогнозам ВОЗ, численность больных СД в мире к 2030 году превысит 439 млн человек [1], причем у большинства из них (90–95%), как и в настоящее время, будет диагностироваться СД 2-го типа (СД2) [2].

По современным представлениям, СД2 – хроническое мультифакторное заболевание [2, 3], ранним клиническим проявлением которого является гипергликемия, обусловленная развитием резистентности тканей к инсулину. Возникающая инсулинорезистентность первоначально сопровождается усилением секреции инсулина (инсулинемией), которая в последующем сменяется истощением функции островковых клеток поджелудочной железы и развитием истинного дефицита инсулина в организме.

Клинически СД2 обычно начинает проявляться после 40–50 лет, а ремиссия достигается путем коррекции режима питания (ограничение поступления в организм углеводов и несбалансированных липидов) [4], повышения физических нагрузок (активизация мышечной системы пациента для повышения ею утилизации глюкозы) [5], а также устранения сопутствующего кишечного дисбиоза [6–8] (использование про- и пребиотиков, привнесение в кишечник полезной микрофлоры, утилизирующей углеводы из кишечника [9–11]). Эффективность таких мероприятий позволила связать развитие СД2 с постепенным накоплением в организме ряда эпигенетических нарушений [3, 12–14], которые возникают как следствие нарушения физико-химических и функциональных свойств клеточных мембран организма в ответ на избыточное содержание глюкозы в крови и межклеточной жидкости, способствующих дисбалансу экспрессии генома. Последнее выражается дисфункцией отдельных или множества генов [15, 16], обеспечи-

вающих регуляцию трансмембранного транспорта углеводов путем связывания инсулина рецепторами цитоплазматических мембран и биопереноса глюкозы внутрь клеток гормоно-рецепторным комплексом [16]. При дисфункции генов углеводного обмена нарушается метаболизм гликогена, активируется полиоловый путь метаболизма глюкозы, нарушается адекватность окислительно-восстановительных и энергетических процессов, что сопровождается развитием оксидативного стресса и накоплением в клетках токсичных супероксидных радикалов [17]. Инсулинорезистентность сопровождается также развитием дислипидемии и ожирения, поскольку избыток инсулина стимулирует липогенез, ведет к накоплению липопротеидов низкой и очень низкой плотности, что создает условия для развития жировой дистрофии печени и атеросклероза сосудов [17, 18, 20]. С инсулинорезистентностью связывают также нарушение функции протеинкиназы С-3 и накопление токсичных гликированных липопротеидов и белков с измененными антигенными свойствами, которые способствуют активации врожденного и адаптивного иммунитета, а также развитию сосудистого воспаления, ответственного за возникновение макро- и микрососудистых осложнений при СД2 [17, 20].

По современным представлениям, прогрессирование иммунной дисфункции при СД2, как и при других хронических заболеваниях, повышает чувствительность организма пациента к инфекциям и инфекционным осложнениям [21, 22]. Кроме того, иммунная дисфункция препятствует достижению ремиссии и восстановительной регенерации тканей из-за дезадаптации и стрессорного истощения способности клеток иммунной системы (прежде всего лимфоцитов) осуществлять адресный перенос регенерационных сигналов в зоны повреждения [23].

В последние десятилетия для активизации регенерационных процессов в поврежденных органах и тканях при различных хронических заболеваниях было предложено использовать донорские гемопоэтические и стромальные клетки костного мозга – центрального органа иммуногенеза в организме, которые, как известно, обладают в организме наиболее высоким регуляторным и регенерационным потенциалом. Было показано, что применение мононуклеарных и стромальных клеток костного мозга (ККМ) здоровых аллогенных доноров способно индуцировать ремиссию клинических проявлений СД 1-го и 2-го типа, но только на ранних стадиях заболевания [24, 25].

Из литературы последних лет стало известно [26], что эффективность клеточной терапии может быть усилена путем использования не интактных (свежевыделенных), а апоптотически измененных ККМ. Эти клетки при введении в организм реципиента подвергаются апоптозу, превращаются в секретомы и способны более мощно продуцировать многочисленные рост-стимулирующие паракринные факторы (нано-везикулы, липиды, экзосомы, различные микроРНК, белки [27] и другие компоненты), тем самым повышая результативность восстановительных процессов в поврежденных органах. Между тем в доступной литературе мы не обнаружили данных о степени эффективности терапии СД2 апоптотическими ККМ на разных стадиях заболевания, что позволило сформулировать цель настоящего следования.

Цель настоящей работы – сравнить эффективность коррекции патогенетических нарушений в организме при использовании интактных (свежевыделенных) и апоптотических ККМ здорового аллогенного донора у животных с СД2 на разных этапах прогрессирующего развития заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Патогенетические изменения в организме при СД2 и возможность их коррекции при использовании клеточной терапии изучали на генетической модели СД на мутантных мышах C57BL/KsJYLepr db/+(B/Ks-Leprdb/+) – (db/db), которые несут рецессивный ген – leptin receptor – Lepr db – (db) (8-я группа сцепления, 4-я хромосома). Ген db в гомозиготном состоянии вызывает диабет, сходный с СД2, с дегрануляцией β-клеток в островках поджелудочной железы, но без дефицита инсулина на ранних стадиях [24]. Все экспериментальные исследования с использованием лабораторных животных проводили в строгом соответствии с законодательством Российской Федерации (в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России № 708 от 23.08.2010 г.), а также стандартом ГОСТ Р ИСО 10993-2-2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к условиям содержания животных») и с соблюдением биоэтических принципов, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (2005 г.).

Общее количество мышей с диабетом B/Ks-Lepr db/Lepr db (db/db), использованных в экспериментах, составило 52 головы, возраст 0,5–1,0 месяца, когда клинические симптомы заболевания находились еще в состоянии компенсации. Эти мыши были включены в 4 экспериментальные группы: 1-я группа – контроль (n = 10), в которой были выявлены стадии (этапы) прогрессирующего развития СД2 без применения корригирующих воздействий; во 2-й (n = 14), 3-й (n = 14) и 4-й (n = 14) опытных группах изучали эффективность корригирующего воздействия однократного внутрибрюшинного введения несортированных мононуклеарных клеток аллогенного костного мозга (МККМ) от здорового донора в дозе 40–45 × 10^6 клеток. Различие второй, третьей и четвертой групп состояло в том, что приготовленные МККМ вводили в организм мышей на разных стадиях (сроках) прогрессирующего развития СД2, которые были

выявлены нами ранее [28]. Во 2-й группе МККМ вводили через 1 мес. после рождения (стадия адаптации), когда клинические симптомы были частично компенсированы и слабо выражены. В 3-й группе МККМ вводили на 3-м мес. после рождения, когда животные уже пребывали в состоянии прогрессирующего развития болезни (стадия дезадаптации). В 4-й группе МККМ вводили на 7-м мес. после рождения, когда в организме мышей появлялись клинические признаки нарастания тяжести заболевания и развитие сосудистых осложнений (у части мышей на этом сроке на коже появлялись мокнущие язвы). В каждой из групп с введением МККМ было выделено 2 подгруппы, в одной из них были использованы интактные (свежевыделенные) МККМ (иМККМ), а в другой – апоптотические МККМ (аМККМ). Распределение мутантных мышей с СД2 по экспериментальным группам представлено в таблице.

иМККМ получали из костного мозга здоровых гетерозиготных мышей (db/+m) (n = 20) по общепринятой методике [29]; аМККМ получали путем инкубации иМККМ в консервирующем ионсбалансированном растворе Кустодиол (раствор НТК-Бредшнейдера) при t = 4–6 °С в течение 48 часов, так как, согласно нашим исследованиям, при указанных режимах хранения содержание аМККМ в состоянии раннего обратимого апоптоза становилось достоверно выраженным и достигало 44,8%, а содержание аМККМ в состоянии позднего необратимого апоптоза в составе клеточного пула не превышало 2–8% ($p < 0,02$). Всего в работе было использовано 72 животных. В процессе эксперимента на протяжении 6–7 мес. проводилось динамическое исследование состояния животных с генетической моделью СД2. С помощью аппарата лазерной допплеровской флуометрии «Лазма СТ» по разработанной нами методике [30], неинвазивно изучали состояние микроциркуляции в тканях (для исследований использовали хвост мышей), а также определяли в тканях уровень активности митохондриальных окислительных ферментов – НАДН, ФАД – и автоматически рассчитывали показатель окислительного метаболизма – ПОМ по формуле: ПОМ = Мнутр / (Анадн / Афад), где Мнутр – среднее значение нутритивного кровотока, поддерживающего трофику тканей и одновременно учитывающего колебания кровотока, обусловленного миогенными, нейрогенными механизмами и амплитудами сердечных сокращений [30]; Анадн и Афад – активность коферментов в безмерных единицах. Кроме того, в динамике измеряли уровень глюкозы фотометрическим методом на приборе Accu-Chek (Швейцария), измеряли в динамике вес животных. Часть животных в группе 2 после введения МККМ выводили из эксперимента через 4 мес. наблюдения и проводили морфологическое исследование печени, исследуя гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. Численные значения результатов проведенных исследований подвергали статистической обработке на персональном компьютере с предварительным использованием теста Шапиро–Уилка на небольшом количестве выборок ($n > 5$) для доказательства нормальности распределения экспериментальных данных. Достоверность различий определялась с помощью t-критерия Стьюдента (стандартный программный пакет – Microsoft Excel, 2007). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлены результаты динамического исследования изменений содержания глюкозы в крови и массы тела у мышей с СД2 в 1-й, контрольной, группе и во 2-й группе после однократного введения мышам на 1-м мес. жизни иМККМ и аМККМ в одинаковых дозах.

В контроле в течение 7 мес. наблюдения по мере развития заболевания происходит неуклонное повышение содержания глюкозы в крови с 18,5 ± 2,4 до значений 35 ммоль/л и выше. Введение иМККМ также не препятствовало повышению содержания глюкозы в крови, но уровень глюкозы в крови начиная с 3 мес. наблюдения становился достоверно ниже по сравнению с контролем на всех сроках наблюдения. При введении аМККМ в той же дозе уже через

Таблица

Распределение мутантных мышей с СД2 по экспериментальным группам

Distribution of mutant mice with T2D across experimental groups

№ группы	Характеристика группы	Количество мышей	Характеристика МККМ
1	Контроль	10	Физиологический раствор
2	Применение МККМ на 1-м мес. жизни	14	Интактные (n = 7)
			Апоптотические (n = 7)
3	Применение МККМ на 3-м мес. жизни	14	Интактные (n = 7)
			Апоптотические (n = 7)
4	Применение МККМ на 7-м мес. жизни	14	Интактные (n = 7)
			Апоптотические (n = 7)
Всего		52	

1 мес. происходило не повышение, а выраженное и достоверное снижение глюкозы в крови, которое к концу наблюдения (6–7 мес.) достигало субнормальных значений – 6,5–6,7 ммоль/л. Исследование динамики изменений массы тела показало, что в контроле она характеризовалась повышением с 35,4 ± 4,2 г в исходе до 43,2–46,7 г к 2–3 мес. и сохранялась на этом уровне с небольшими колебаниями к 6–7 мес. наблюдения. При использовании иМККМ и аМККМ динамика изменения массы тела мышей в этой группе была практически одинаковой и характеризовалась постепенным снижением массы тела к 4 мес. наблюдения по сравнению с контролем, а затем стабилизацией значений массы тела, которые составляли 27,5 ± 2,7 и 28,2 ± 3,1 г к 7 мес. наблюдения при однократном использовании иМККМ и аМККМ. Таким образом, при использовании иМККМ и аМККМ на раннем этапе развития СД2 (на сроке 1 мес. жизни мышей) корригирующий эффект на показатели веса и содержания глюкозы в крови оказывали оба типа клеток, однако эффект от применения аМККМ был достоверно наиболее отчетливо выражен и характеризовался стабильностью.

Результаты однократного применения иМККМ и аМККМ на этапе прогрессирующей дезадаптации при развитии СД2 (2,5–3,5 мес. жизни мышей) – на сроке 3 мес. представлены на рис. 2.

Корригирующее воздействие МККМ, примененных на 3-м месяце жизни мышей, было менее эффективно как при использовании иМККМ, так и при использовании аМККМ. Уровень глюкозы в крови в контроле к 3 мес. наблюдения (6 мес. жизни мышей с СД2) достигал максимума 35 ммоль/л, а затем происходило некоторое снижение значений глюкозы в крови, которые, однако, оставались на высоком уровне и составляли 32,1 ± 3,2 ммоль/л к 7 мес. наблюдения.

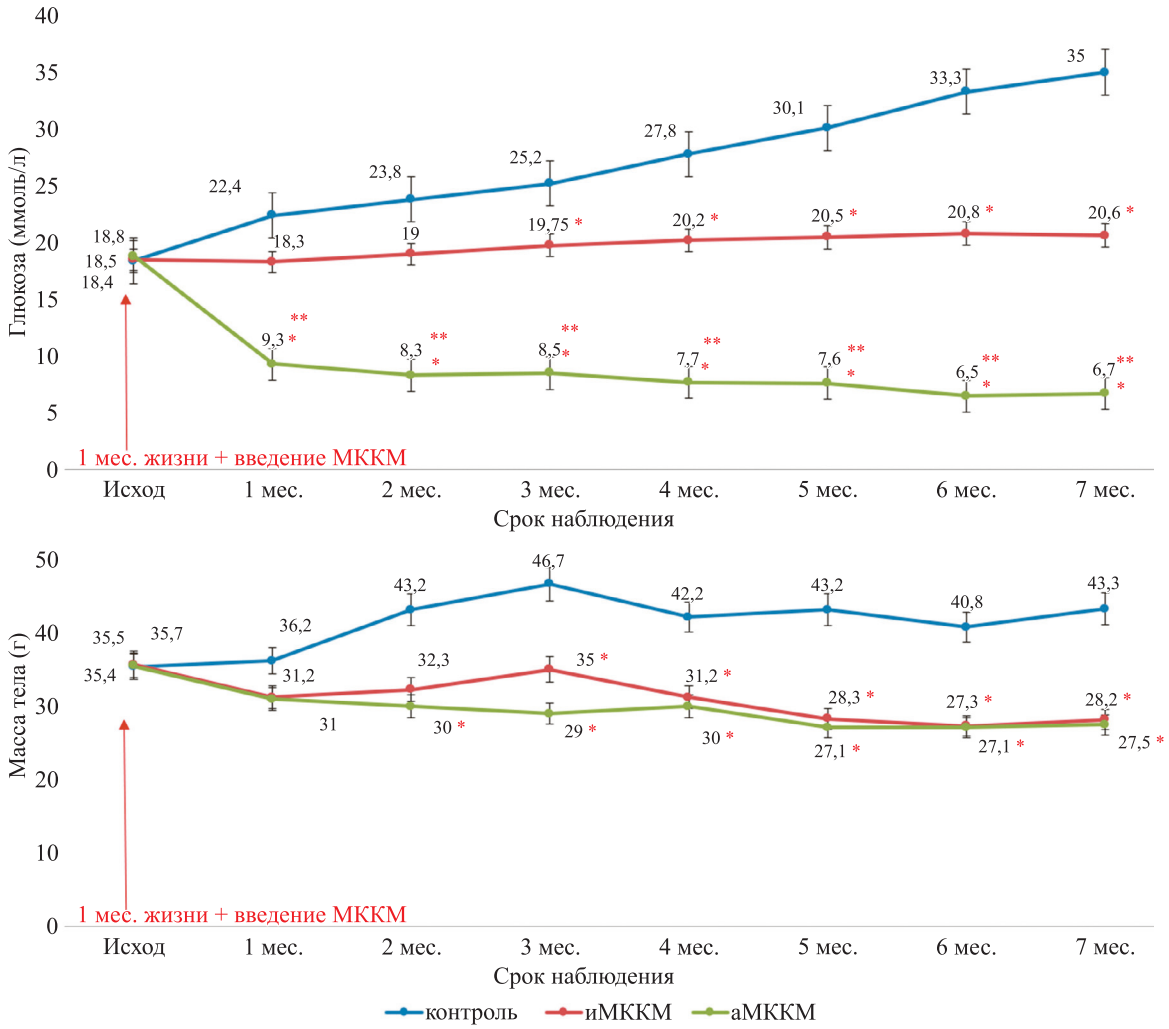


Рис. 1. Динамика изменения содержания глюкозы в крови и массы тела у мутантных мышей db/db с прогрессирующим развитием СД2 после однократного введения МККМ (иМККМ и аМККМ) на стадии адаптации (на сроке жизни мышей 1 мес.); * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p < 0,05$ по сравнению с иМККМ

Fig. 1. Changes in blood glucose levels and body weight in mutant db/db mice with progressive T2D following a single administration of BMMCs (intact and apoptotic) during the adaptation phase (at 1 month of age); * – $p < 0.05$ *vs* control; ** – $p < 0.05$ *vs* iBMMCs

При использовании иМККМ значения содержания глюкозы в крови на протяжении всего срока наблюдения сохранялись на незначительно меняющемся высоком уровне, который, однако, и на ранних, и на отдаленных сроках наблюдения в этой 3-й группе был ниже, чем в контроле. При введении аМККМ на 3-м месяце жизни мышей снижение содержания глюкозы в крови отмечалось уже в течение 1 мес. наблюдения, и это снижение было достоверным по сравнению с контролем: уровень глюкозы в крови к этому сроку достигал 17,5 ± 2,1 ммоль/л и оставался на этом уровне практически до конца наблюдения, достигая к 7 мес. наблюдения (10 мес. жизни) значений 15,7 ± 2,4 ммоль/л. Динамика изменения массы тела в контроле характеризовалась постепенным снижением – с 43,2 ± 1,8 г в исходе до 20,5 ± 3,7 г к 7 мес. наблюдения. При использовании иМККМ масса тела к 1 мес. наблюдения повышалась до 46,5 ± 2,7 г, а затем снижалась до 30,1 ± 1,8 г к 7 мес. наблюдения. При использовании аМККМ масса тела мышей снижалась до 27–28 г, т. е. снижение веса мышей с СД2 к концу наблюдения при введении иМККМ и аМККМ было менее выраженным, чем в контроле. Результаты, полученные в этой серии опытов, показывают, что применение МККМ – и интактных, и апоптотических – у мышей с СД2 на стадии прогрессирующей дезадаптации (3 мес. жизни) оказывает регуляторное воздействие на исследуемые показатели (стабилизируются значения массы тела, снижается уровень глюкозы в крови), но выраженность корригирующего эффекта иМККМ и аМККМ, примененных на этой стадии, существенно снижена по сравнению с введе-

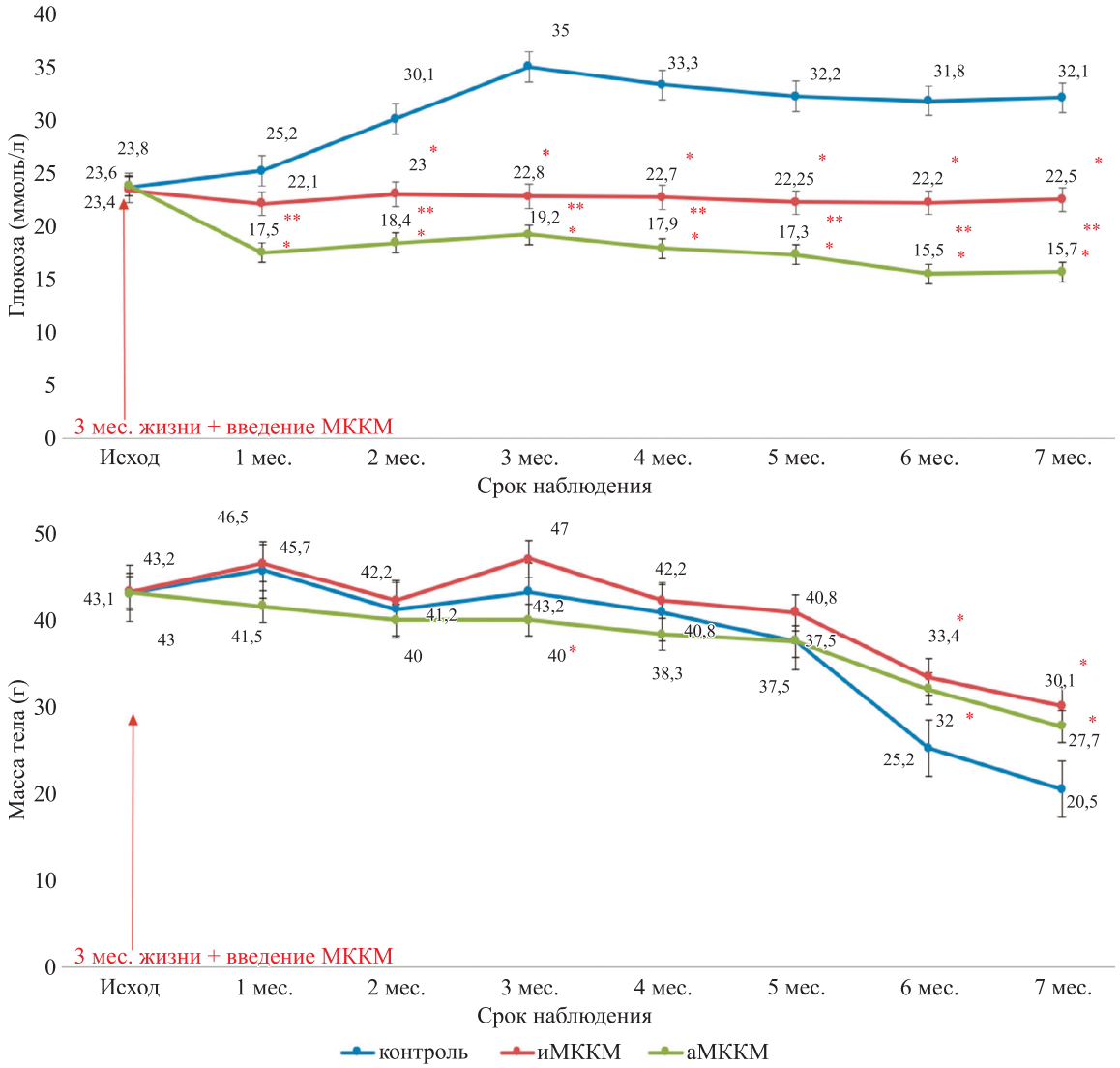


Рис. 2. Динамика изменения содержания глюкозы в крови и массы тела у мутантных мышей db/db с прогрессирующим развитием СД2 после однократного введения МККМ (иМККМ и аМККМ) на стадии прогрессирующей дезадаптации (на сроке жизни мышей 3 мес.); * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p < 0,05$ по сравнению с иМККМ

Fig. 2. Changes in blood glucose levels and body weight in db/db mutant mice with progressive T2D following a single administration of BMMCs (intact and apoptotic BMMCs) during the stage of progressive maladaptation (at 3 months of age); * – $p < 0.05$ compared to control; ** – $p < 0.05$ compared to intact BMMCs

нием тех же клеток на более раннем сроке развития СД2 (в стадии адаптации).

Особенности динамики изменения содержания глюкозы в крови и массы тела мышей с СД2 после введения им МККМ (иМККМ и аМККМ) на 7-м мес. жизни, т. е. на позднем этапе прогрессирующего развития СД2 (стадия декомпенсации), которая развивается с 5–6 мес. жизни до гибели животных, представлена на рис. 3.

На этапе декомпенсации даже в контроле происходило постепенное и спонтанное снижение содержания глюкозы в крови с 33,2 ± 2,2 до 22,1 ± 1,7 ммоль/л к 5 мес. наблюдения (12 мес. жизни), и это свидетельствовало о развитии глубоких необратимых нарушений углеводного обмена в организме. В опытах с введением иМККМ и аМККМ наступало еще более резкое падение содержания глюкозы в крови, причем особенно выраженное снижение происходило в группе с применением аМККМ: к 5 мес. наблюдения под влиянием иМККМ содержание глюкозы в крови снизилось до 15,5 ± 1,4 ммоль/л, а при использовании аМККМ – до 7,4 ± 1,9 ммоль/л, причем к этому сроку в обеих группах погибло более 60% животных (9 мышей из 14), а в контроле – менее 30% (3 мыши из 10).

О развитии более тяжелых нарушений метаболизма у животных, получавших терапию МККМ на этапе декомпенсированного состояния организма, свидетельствуют также результаты измерения массы

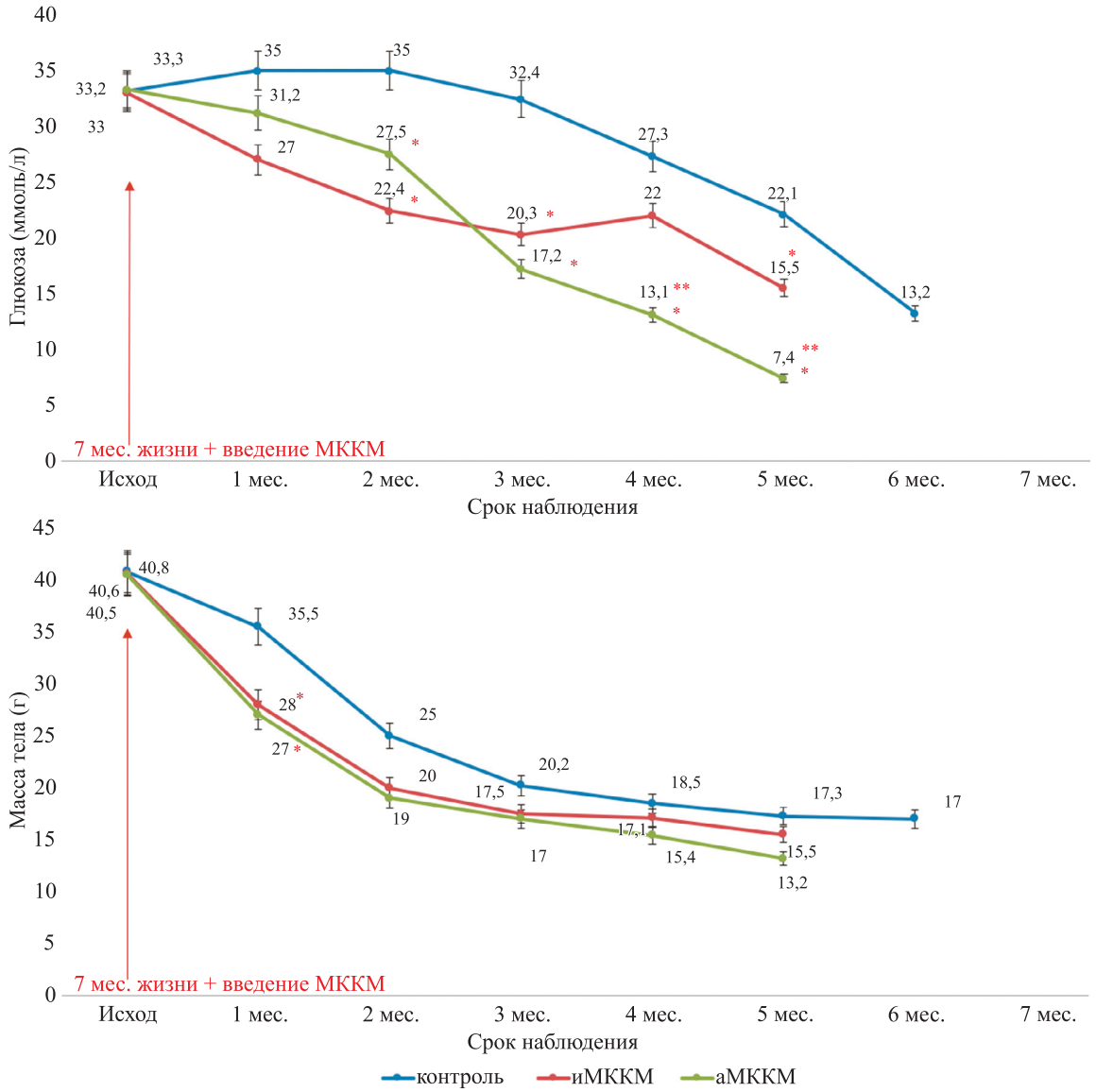


Рис. 3. Динамика изменения содержания глюкозы в крови и массы тела у мутантных мышей db/db с прогрессирующим развитием СД2 после однократного введения МККМ (иМККМ и аМККМ) на стадии декомпенсации (на сроке жизни мышей 7 мес.); * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** – $p < 0,05$ по сравнению с иМККМ

Fig. 3. Changes in blood glucose levels and body weight in mutant db/db mice with progressive T2D following a single administration of BMMCs (iBMMCs and aBMMCs) at the decompensation stage (at 7 months of age); * – $p < 0.05$ *vs* control; ** – $p < 0.05$ *vs* iBMMCs

тела этих животных: в контроле критических значений масса тела (17–17,5 г) достигала к 5–6 мес. наблюдения (т. е. к 12 мес. жизни), тогда как при использовании МККМ (иМККМ и аМККМ) – к 3–4 мес. наблюдения (т. е. к 10–11 мес. жизни).

Для выяснения причин снижения эффективности корригирующего воздействия МККМ (иМККМ и аМККМ) по мере прогрессирования СД2 нами была изучена динамика изменения окислительного метаболизма в тканях мышей в течение 11 мес. эксперимента в контроле и в группах с введением аМККМ на разных стадиях прогрессирования СД2, эффект от применения которых был наиболее выражен. При этом мы полагали, что результат терапевтического корригирующего воздействия аМККМ, как и любых других медикаментозных препаратов, определяется степенью поддержания адекватности состояния окислительно-восстановительных процессов в тканях организма и что стадии прогрессирующей дезадаптации и декомпенсации, развивающиеся при СД2, являются следствием глубокой тканевой гипоксии и развивающегося в них энергодефицита [28]. Результаты динамического изучения обобщенного показателя окислительного метаболизма (ПОМ) в контроле и в группах с применением аМККМ на разных сроках прогрессирующего развития СД2 (на 1, 3 и 7-м мес. жизни) представлены на рис. 4. В контрольной группе мышей с СД2 на протяжении 11 мес. исследования происходит постепенное снижение ПОМ: с 9,74 в исходе (1 мес. жизни) до 3,2 к 11 мес. жизни, т. е. по мере прогрессирования СД2 в тканях организма постепенно нарастает гипоксия. На всех сроках введения аМККМ доставка их в организм сопровождается резким снижением и последующим повышением уровня ПОМ в тканях. Мы отметили также, что по мере прогрессирования СД2 двухфазная динамика отклонения амплитуд ПОМ (снижение–повышение) становится менее выраженной, и это указывает на постепенное истощение в клетках организма регуляторных и восстановительных резервов. При введении аМККМ на 1-м мес. жизни, когда резервы клеточной регуляции не истощены, ПОМ в тканях на протяжении всего срока наблюдения остаются на более высоком уровне, чем в контроле; введение аМККМ на 3-м мес. жизни также поддерживало ПОМ на уровне выше контрольного.

Между тем динамика ПОМ при введении аМККМ на 7-м мес. жизни на всем сроке наблюдения оставалась на уровне ниже контрольного, что свидетельствовало о прогрессирующем, глубоком и необратимом угнетении окислительных процессов в организме и их декомпенсации. Результаты проведенных исследований убеждают в том, что наиболее благоприятный и пролонгированный корригирующий эффект на метаболизм в тканях организма при СД2 оказывают аМККМ, введенные на ранних этапах развития СД2 на стадии адаптации и прогрессирующей дезадаптации. Для доказательства сохраняющегося корригирующего воздействия иМККМ и особенно аМККМ на этапе прогрессирующей дезадаптации и целесообразности использования клеточной терапии на этом этапе приводим результаты гистологического исследования печени, которая, как известно,

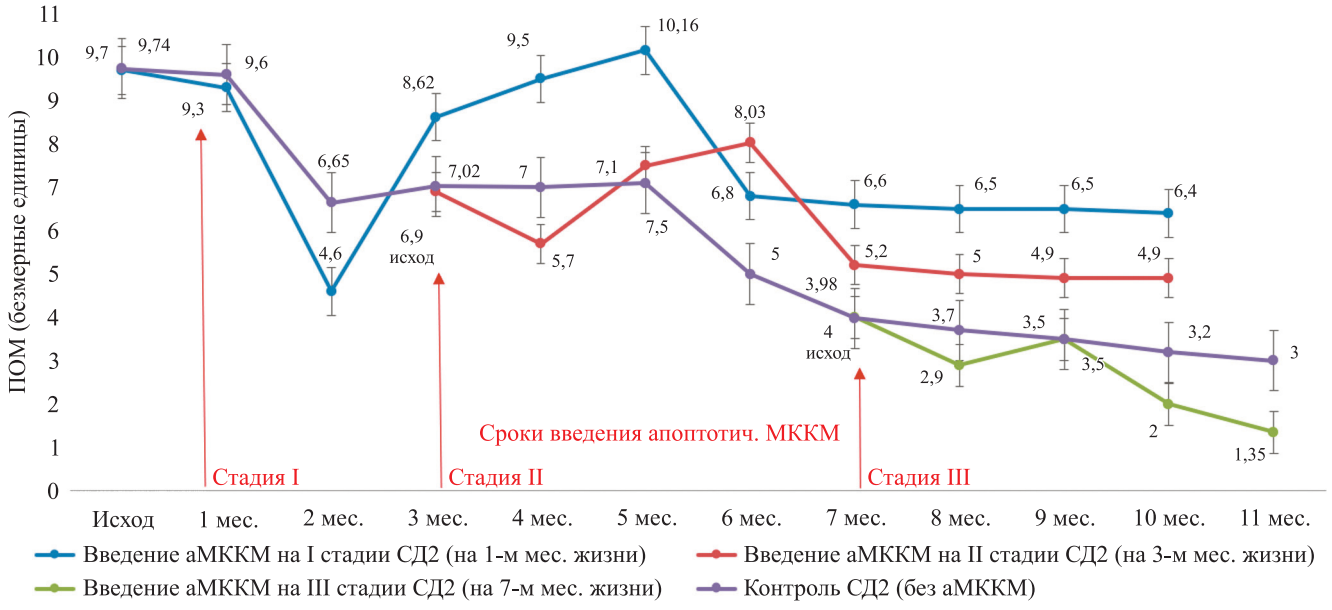


Рис. 4. Динамика изменения показателя окислительного метаболизма (ПОМ) в тканях организма при развитии СД2 без и на фоне введения аМККМ на разных стадиях прогрессирования заболевания

Fig. 4. Changes in the oxidative metabolism index (OMI) in tissues during the progression of T2D, with and without administration of apoptotic BMMCs at different stages of disease progression

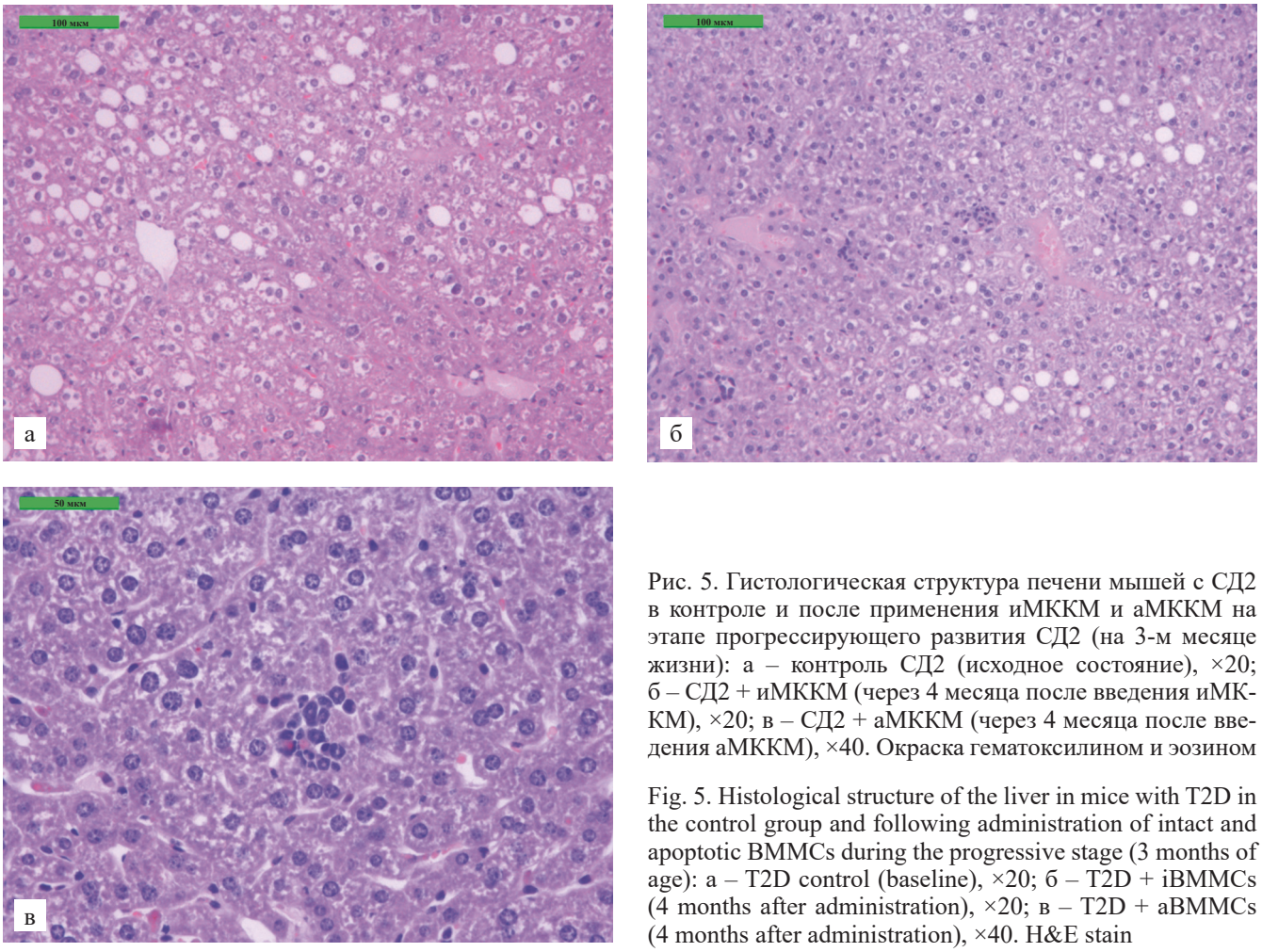


Рис. 5. Гистологическая структура печени мышей с СД2 в контроле и после применения иМККМ и аМККМ на этапе прогрессирующего развития СД2 (на 3-м месяце жизни): а – контроль СД2 (исходное состояние), ×20; б – СД2 + иМККМ (через 4 месяца после введения иМККМ), ×20; в – СД2 + аМККМ (через 4 месяца после введения аМККМ), ×40. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 5. Histological structure of the liver in mice with T2D in the control group and following administration of intact and apoptotic BMMCs during the progressive stage (3 months of age): a – T2D control (baseline), ×20; б – T2D + iBMMCs (4 months after administration), ×20; в – T2D + aBMMCs (4 months after administration), ×40. H&E stain

играет важную патогенетическую роль в развитии СД2 (рис. 5).

В гистологических препаратах печени гепатоциты подвергнуты выраженной, преимущественно крупнокапельной, жировой дистрофии; наряду с жировыми каплями среди гепатоцитов выявляется некоторое количество двуядерных клеток, являющихся, как известно, признаком сохраняющихся в тканях репарационных процессов. На срезах выявляются также участки с гибелью большого количества печеночных клеток и замещением возникающих пустот каплями жира (рис. 5, а). Применение МККМ существенно снижает в печени содержание гепатоцитов с признаками жировой дистрофии, а также снижается площадь зон с гибелью печеночных клеток и замещением их каплями жира. При исследовании нескольких полей зрения было установлено, что при использовании иМККМ количество клеток печени с включением жировых капель снижается практически наполовину, а при использовании аМККМ гепатоциты, содержащие жировые капли, вообще отсутствовали (рис. 5, б, в).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований позволяют прийти к заключению, что аМККМ на всех этапах прогрессирующего развития СД2 оказывают более мощное регуляторное воздействие на организм по сравнению с иМККМ, причем выраженность их регуляторной активности находится в прямой зависимости от значений ПОМ, отражающих степень сохранности тканевых адаптационных резервов. На ранних этапах развития СД2 (на стадии адаптации и на стадии прогрессирующей дезадаптации), когда значения ПОМ находятся в тканях на достаточно высоком уровне, иМККМ и особенно аМККМ оказывают выраженный корригирующий эффект на исследуемые показатели. На поздней стадии развития СД2 на стадии декомпенсации метаболизма, когда значения ПОМ в тканях организма снижаются ниже критического уровня, МККМ, и особенно аМККМ, усугубляют тяжесть тканевого повреждения метаболизма и ускоряют гибель животных. Проведенное исследование показало, что применение МККМ на ранних стадиях развития СД2 может оказаться полезным в качестве средства вспомогательной поддерживающей терапии. На поздних стадиях развития СД2 применение иМККМ и аМККМ бесперспективно и

даже опасно, что указывает на необходимость применения заместительных трансплантационных методов лечения, таких как пересадка донорских островковых клеток или поджелудочной железы.

ВЫВОДЫ

1. Прогрессирующее развитие СД2 сопровождается постепенным снижением показателя окислительного метаболизма (ПОМ) в тканях, степень выраженности которого предопределяет снижение эффективности применения МККМ.
2. иМККМ и аМККМ здорового донора при введении в организм мышей с СД2 реализуют свое регуляторное воздействие путем стресс-адаптивной перестройки метаболизма, что сопровождается краткосрочным снижением ПОМ в тканях.
3. На ранней стадии развития СД2 (1–1,5 мес. – стадия адаптации), когда в клетках организма еще сохранены регуляторные резервы (ПОМ в тканях имеет высокие значения), однократное применение иМККМ и аМККМ в дозе 40–45 × 10^6 клеток на животное (на сроке 1 месяц жизни) оказывает наиболее выраженное корригирующее воздействие на клинические и лабораторные показатели: пролонгированно снижается уровень глюкозы в крови и стабилизируется масса тела. Однако эффективность от применения аМККМ была более выражена.
4. На стадии развернутого течения СД2 (с 2 до 4 мес. – стадия прогрессирующей дезадаптации) применение иМККМ и аМККМ в той же дозе на сроке жизни 3 мес. оказывает менее выраженное (чем на сроке 1 мес. жизни) корригирующее воздействие на уровень глюкозы в крови и массу тела, причем регуляторное воздействие начинает отчетливо проявляться на отдаленных сроках наблюдения. Эффект от применения аМККМ был также более выражен.
5. На поздней стадии развития СД2 (с 6 мес. до гибели животных, стадия декомпенсации) однократное применение иМККМ и аМККМ в той же дозе на сроке 7 мес. жизни приводит к ускоренному снижению гликемии, прогрессирующему снижению веса и ускоренной гибели животных, причем указанные эффекты от применения аМККМ были более выражены.
6. МККМ интактные и апоптотические, однократно примененные в терапевтической дозе при СД2 в период прогрессирующей дезадаптации, оказывают регуляторное воздействие на восстановительные процессы в печени. Это выражается на отдаленных сроках наблюдения в снижении более чем в 2 раза по сравнению с контролем количества гепатоцитов с признаками жировой дистрофии при использовании иМККМ и в полном устранении признаков жировой дистрофии в ткани печени при использовании аМККМ.
7. Применение МККМ при СД2 в качестве мощного естественного адаптогена является полезным на ранних стадиях развития болезни в качестве средства вспомогательной поддерживающей терапии. На поздних стадиях развития СД2 из-за истощения энергетических и регуляторных резервов в тканях организма МККМ усугубляют тяжесть заболевания и не должны применяться.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ramírez-Alarcón K, Victoriano M, Mardones L, Villagran M, Al-Harrasi A, Al-Rawahi A et al.* Phytochemicals as Potential Epidrugs in Type 2 Diabetes Mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Jun 1; 12: 656978. doi: 10.3389/fendo.2021.656978.
2. *Artasensi A, Pedretti A, Vistoli G, Fumagalli L.* Type 2 diabetes mellitus: A review of multi-target drugs. *Molecules*. 2020 Apr 23; 25 (8): 1987. doi: 10.3390/molecules25081987.
3. *Hossan T, Kundu S, Alam SS, Nagarajan S.* Epigenetic Modifications Associated with the Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2019; 19 (6): 775–786. doi: 10.2174/1871530319666190301145545.
4. *Taylor R, Ramachandran A, Yancy WS Jr, Forouhi NG.* Nutritional basis of type 2 diabetes remission. *BMJ*. 2021 Jul 7; 374: n1449. doi: 10.1136/bmj.n1449.
5. *Nishikawa H, Fukunishi S, Asai A, Yokohama K, Ohama H, Nishiguchi S, Higuchi K.* Sarcopenia, frailty and type 2 diabetes mellitus (Review). *Mol Med Rep*. 2021 Dec; 24 (6): 854. doi: 10.3892/mmr.2021.12494.
6. *Ma Q, Li Y, Li P, Wang M, Wang J, Tang Z et al.* Research progress in the relationship between type 2 diabetes mellitus and intestinal flora. *Biomed Pharmacother*. 2019 Sep; 117: 109138. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109138.
7. *Zhou Z, Sun B, Yu D, Zhu C.* Gut Microbiota: An Important Player in Type 2 Diabetes Mellitus. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Feb 15; 12: 834485. doi: 10.3389/fcimb.2022.834485.
8. *Bielka W, Przezak A, Pawlik A*. The Role of the Gut Microbiota in the Pathogenesis of Diabetes. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 1; 23 (1): 480. doi: 10.3390/ijms23010480.
9. *Zhai L, Wu J, Lam YY, Kwan HY, Bian ZX, Wong HLX*. Gut-Microbial Metabolites, Probiotics and Their Roles in Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 27; 22 (23): 12846. doi: 10.3390/ijms222312846.
10. *Xie D, Zhao X, Chen M.* Prevention and treatment strategies for type 2 diabetes based on regulating intestinal flora. *Biosci Trends*. 2021 Nov 21; 15 (5): 313–320. doi: 10.5582/bst.2021.01275.
11. *Wu J, Yang K, Fan H, Wei M, Xiong Q*. Targeting the gut microbiota and its metabolites for type 2 diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 May 9; 14: 1114424. doi: 10.3389/fendo.2023.1114424.
12. *Ahmed SAH, Ansari SA, Mensah-Brown EPK, Emerald BS.* The role of DNA methylation in the pathogene-

sis of type 2 diabetes mellitus. *Clin Epigenetics*. 2020 Jul 11; 12 (1): 104. doi: 10.1186/s13148-020-00896-4.
13. *Ibrahim HIM.* Epigenetic Regulation of Obesity-Associated Type 2 Diabetes. *Medicina (Kaunas).* 2022 Sep 28; 58 (10): 1366. doi: 10.3390/medicina58101366.
14. *Raciti GA, Desiderio A, Longo M, Leone A, Zatterale F, Prevenzano I et al.* DNA Methylation and Type 2 Diabetes: Novel Biomarkers for Risk Assessment? *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 28; 22 (21): 11652. doi: 10.3390/ijms222111652.
15. *Borse SP, Chhipa AS, Sharma V, Singh DP, Nivsarkar M.* Management of Type 2 Diabetes: current strategies, unfocussed aspects, challenges and alternatives. *Med Princ Prat*. 2021; 30 (2): 109–121. doi: 10.1159/000511002.
16. *Саланс С.* Инсулиннезависимый сахарный диабет: диагностика и лечение. *Эндокринология* / Под ред. М. Лавина. М.: Практика, 1999: 925–941. *Salans S.* Insulinnezavisimyy sakharnyy diabet: diagnostika i lecheniye. *Endokrinologiya* / Pod red. M. Lavina. M.: Praktika, 1999: 925–941.
17. *Henning RJ*. Type-2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Future Cardiol*. 2018 Nov; 14 (6): 491–509. doi: 10.2217/fca-2018-0045.
18. *Malone JI, Hansen BC.* Does obesity cause type 2 diabetes mellitus (T2DM)? Or is it the opposite? *Pediatr Diabetes*. 2019 Feb; 20 (1): 5–9. doi: 10.1111/pedi.12787.
19. *Ruze R, Liu T, Zou X, Song J, Chen Y, Xu R et al.* Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis and treatments. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Apr 21; 14: 1161521. doi: 10.3389/fendo.2023.1161521.
20. *Tanase DM, Gosav EM, Costea CF, Ciocoiu M, Lacatusu CM, Maranduca MA et al.* The Intricate Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Insulin Resistance (IR), and Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *J Diabetes Res*. 2020 Jul 31; 2020: 3920196. doi: 10.1155/2020/3920196.
21. *De Lourdes Ochoa-González F, González-Curiel IE, Cervantes-Villagrana AR, Fernández-Ruiz JC, Castañeda-Delgado JE*. Innate Immunity Alterations in Type 2 Diabetes Mellitus: Understanding Infection Susceptibility. *Curr Mol Med*. 2021; 21 (4): 318–331. doi: 10.2174/1566524020999200831124534.
22. *Golden TN, Simmons RA*. Immune dysfunction in developmental programming of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2021 Apr; 17 (4): 235–245. doi: 10.1038/s41574-020-00464-z.
23. *Бабаева АГ, Геворкян НМ, Зотиков ЕА*. Передача регенерационной информации как частный случай проявления морфогенетической функции лимфоцитов (глава 2, с. 30–50). *Роль лимфоцитов в оперативном изменении программы развития тканей*. М.: Изд. РАМН, 2009; 107. *Babayeva AG, Gevorkyan NM, Zotikov YeA.* Peredacha regeneratsionnoy informatsii kak chastnyy sluchay proyavleniya morfogeneticheskoy funktsii limfotsitov (glava 2, s. 30–50). *Rol' limfotsitov v operativnom izmenenii programmy razvitiya tkaney*. Moskva: Izd. RAMN, 2009; 107.
24. *Степанова ОИ, Онищенко НА, Каркищенко НН, Баранова ОВ, Галахова ТВ.* Использование клеток разных фракций аллогенного костного мозга для терапии сахарного диабета 2-го типа на генетической модели. *Биомедицина*. 2008; 2: 78–81. *Stepanova OI, Onishchenko NA, Karkishchenko NN, Baranova OV, Galakhova TV.* Ispol'zovaniye kletok raznykh fraktsiy allogennogo kostnogo mozga dlya terapii sakharnogo diabeta 2-go tipa na geneticheskoy modeli. *Biomeditsina*. 2008; 2: 78–81.
25. *Pires IGS, Silva E Souza JA, de Melo Bisneto AV, Passos XS, Carneiro CC*. Clinical efficacy of stem cell therapy on diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Transpl Immunol*. 2022 Dec; 75: 101740. doi: 10.10000016/j.trim.22022.101740.
26. *Beer L, Mildner M, Gyongyosi M, Ankersmit HJ*. Peripheral blood mononuclear cell secretome for tissue repair. *Apoptosis*. 2016; 21: 1336–1353. doi: 10.1007/s10495-016-1292-8.
27. *Beer L, Zimmermann M, Mitterbauer A, Ellinger A, Gruber F, Narzt MS et al.* Analysis of the secretome of apoptotic peripheral blood mononuclear cells: impact of released proteins and exosomes for tissue regeneration. *Sci Rep*. 2015; 5: 16662. doi: 10.1038/srep16662.
28. *Степанова ОИ, Алчинова ИБ, Черепов АБ, Метелкин АА, Карганов МЮ, Никольская АО и др.* Динамика состояния клеток крови и костного мозга у мышей при прогрессирующем развитии сахарного диабета 2-го типа. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2024; 68 (1): 98–108. *Stepanova OI, Alchinova IB, Cherepov AB, Metelkin AA, Karganov MYu, Nikolskaya AO et al*. Dynamics of the state of blood cells and bone marrow in mice with the progressive development of type 2 diabetes mellitus. *Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian journal.* 2024; 68 (1): 98–108. https://doi.org/10.25557/0031-2991.2024.01.98-108.
29. *Онищенко НА, Никольская АО, Гоникова ЗЗ, Кирсанова ЛА, Шагидулин МЮ, Севастьянов ВИ.* Роль апоптотических клеток костного мозга при активации регенерационных процессов в печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021; 23 (4): 110–118. *Onishchenko NA, Nikolskaya AO, Gonikova ZZ, Kirsanova LA, Shagidulin MYu, Sevastianov VI.* The role of apoptotic bone marrow cells in activation of liver regeneration. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2021; 23 (4): 110–118. https://doi.org/10.15825/25/1995-1191-2021-4-110-118.
30. *Степанова ОИ, Клесов РА, Семенов ХХ, Помыткин ИА, Онищенко НА, Каркищенко ВН.* Способ неинвазивного изучения тканевых нарушений при сахарном диабете 2-го типа у мышей db/db с помощью лазерной допплеровской флуометрии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67 (2): 118–129. *Stepanova OI, Klesov RA, Semenov KhKh, Pomytkin IA, Onishchenko NA, Karkischenko VN*. A method for noninvasive studying tissue disorders in type 2 diabetes mellitus in db/db mice using laser Doppler flowmetry. *Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian journal.* 2023; 67 (2): 118–129. https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.02.118-129.

Статья поступила в редакцию 3.12.2025 г.
The article was submitted to the journal on 3.12.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-163-172

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АДГЕЗИИ И ПРОЛИФЕРАЦИИ ФИБРОБЛАСТОВ ЛИНИИ NIH 3T3 НА ПОКРЫТИЯХ ИЗ ФИБРОИНА ДОМАШНЕГО И ДИКОГО ШЕЛКА И ИХ КОМПОЗИТАХ С ХИТОЗАНОМ

О. Доси[1, 2], Е.И. Подболотова[1, 2], О.И. Агапова[1], А.Е. Ефимов[1], И.И. Агапов[1]

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

[2] ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)», Долгопрудный, Московская область, Российская Федерация

Цель: оценить *in vitro* цитотоксичность, адгезию и пролиферацию фибробластов на пленочных покрытиях из фиброина домашнего шелка *Bombyx mori*, фиброина дикого шелка (Tussah) и их композитов с хитозаном. **Материалы и методы.** В работе исследовали четыре типа пленочных покрытий: фиброин *Bombyx mori*, фиброин дикого шелка, а также их композиты с хитозаном. Покрытия получали методом литья водных растворов с последующей сушкой. Цитотоксичность оценивали в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-5 методом исследования экстрактов. Адгезию фибробластов линии NIH 3T3 оценивали через 1 час после засева клеток на покрытия, пролиферацию – на 1-е, 2-е и 3-и сутки. Количество клеток определяли после окрашивания ядер 4′,6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) с использованием флуоресцентной микроскопии и автоматизированного анализа изображений. В качестве групп сравнения использовали культуральный пластик с чистой средой и средой с добавлением этилендиаминтетрауксусной кислоты или диметилсульфоксида. **Результаты.** Все исследованные покрытия поддерживали жизнеспособность фибробластов; показатели их метаболической активности находились на уровне, сопоставимом со значениями, полученными для культурального пластика. Установлено, что адгезия и пролиферация клеток на покрытиях из фиброина дикого шелка были эффективнее по сравнению с покрытиями из фиброина *Bombyx mori* на всех временных точках. Введение хитозана приводило к дополнительному увеличению числа адгезированных и пролиферирующих клеток. Наибольшие значения клеточного ответа зафиксированы для композитных покрытий на основе фиброина дикого шелка и хитозана. **Заключение.** Пленочные покрытия на основе фиброина дикого шелка демонстрируют повышенную способность поддерживать адгезию и пролиферацию фибробластов *in vitro* – более чем в 2 раза выше, чем фиброин *Bombyx mori* с хитозаном. Композитные системы с включением хитозана дополнительно усиливают эти свойства, что делает их перспективными кандидатами для разработки функциональных биомедицинских покрытий.

Ключевые слова: фиброин шелка, дикий шелк, Тусса, хитозан.

Для корреспонденции: Агапов Игорь Иванович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (495) 231-60-42. E-mail: igor_agapov@mail.ru

Corresponding author: Igor Agapov. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (495) 231-60-42. E-mail: igor_agapov@mail.ru

A COMPARATIVE STUDY OF NIH 3T3 FIBROBLAST ADHESION AND PROLIFERATION ON COATINGS OF DOMESTIC AND WILD SILK FIBROIN AND THEIR CHITOSAN COMPOSITES

O. Dosi[1, 2], E.I. Podbolotova[1, 2], O.I. Agapova[1], A.E. Efimov[1], I.I. Agapov[1]

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

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

Objective: To evaluate the *in vitro* cytotoxicity, adhesion, and proliferation of fibroblasts on film coatings made of *Bombyx mori* silk fibroin, wild silk (Tussah) fibroin, and their chitosan composites. **Materials and methods.** Four types of film coatings were investigated: *Bombyx mori* fibroin, wild silk fibroin, and their respective chitosan composites. The coatings were fabricated by casting aqueous polymer solutions followed by drying. Cytotoxicity was assessed in accordance with GOST R ISO 10993-5 using the extract assay method. NIH 3T3 fibroblast adhesion was evaluated 1 hour after seeding, while proliferation was assessed on days 1, 2, and 3 of culture. Cell quantification was performed following nuclear staining with 4′,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) using fluorescence microscopy combined with automated image analysis. Culture dishes containing sterile medium and medium supplemented with ethylenediaminetetraacetic acid or dimethyl sulfoxide served as control groups. **Results.** All tested coatings supported fibroblast viability, with metabolic activity levels comparable to those observed on standard culture plastic. Fibroblast adhesion and proliferation were consistently higher on wild silk fibroin coatings compared with *Bombyx mori* fibroin coatings at all time points. The incorporation of chitosan further enhanced both cell adhesion and proliferation. The most pronounced cellular response was observed on composite coatings based on wild silk fibroin and chitosan. **Conclusion.** Film coatings based on wild silk fibroin demonstrate an enhanced ability to support fibroblast adhesion and proliferation *in vitro* – more than twice as high as that of *Bombyx mori* fibroin with chitosan. Composite systems incorporating chitosan further enhance these properties, making them promising candidates for the development of functional biomedical coatings.

Keywords: silk fibroin, wild silk, Tussah, chitosan.

ВВЕДЕНИЕ

Фибробласты играют ключевую роль в процессах репарации и регенерации тканей, обеспечивая синтез компонентов внеклеточного матрикса, сокращение раневого дефекта и ремоделирование поврежденных участков. Эффективность заживления во многом определяется способностью фибробластов адгезировать к матриксам и активно пролиферировать [1]. Поэтому характер взаимодействия клеток с поверхностью биоматериала является одним из определяющих факторов для покрытий, пленок и других систем, предназначенных для применения в раневой терапии и регенеративной медицине.

Клеточный ответ на поверхности материалов определяется совокупностью физико-химических и биохимических свойств, включая химический состав и заряд поверхности, микрорельеф и наличие адгезивных лигандов. После контакта материала с биологической средой на его поверхности происходит адсорбция сывороточных белков. Именно сформированный белковый слой обеспечивает адгезию клеток посредством взаимодействия с интегриновыми рецепторами и запускает внутриклеточные сигнальные механизмы, регулирующие организацию цитоскелета, миграцию и пролиферацию [2, 3]. В связи с этим оценка адгезии и пролиферации фибробластов широко используется для сравнительного анализа биологических свойств новых покрытий и биоматериалов [4].

Фиброин шелка относится к числу наиболее изученных и перспективных белковых биоматериалов благодаря сочетанию механической прочности, биосовместимости и технологической универсальности [5, 6]. Его молекулярная структура характеризуется способностью формировать β-слои, что обеспечивает стабильность белка в физиологических условиях [7]. Кроме того, фиброин позволяет получать различные формы материалов – пленки, скаффолды, гидрогели и покрытия – при относительно простых условиях обработки [8, 9–11]. Эти особенности обусловливают широкое использование фиброина в качестве модельного материала при изучении реакции клеток на поверхность биоматериалов [6, 12].

Наиболее распространенным источником фиброина в биоматериаловедении является шелк тутового шелкопряда *Bombyx mori* (домашний шелк), структура и свойства которого уже детально охарактеризованы [5, 8]. Показано, что фиброин *Bombyx mori* поддерживает адгезию и рост различных типов клеток и часто используется как эталонный материал для сравнительных исследований [13]. В то же время фиброин дикого шелка, например шелка Тусса

(Tussah), отличается по аминокислотной последовательности и структуре и содержит RGD-мотивы, способствующие интегрин-зависимой адгезии клеток [2, 6]. Несмотря на это, в литературе представлены лишь единичные исследования, посвященные сопоставлению пленочных покрытий из фиброина дикого шелка и фиброина *Bombyx mori*, полученных в идентичных технологических условиях.

Помимо естественного наличия RGD-мотивов, адгезию клеток на поверхности можно дополнительно повысить путем модификации материала биополимерами. Так, хитозан представляет особый интерес благодаря биосовместимости, положительному заряду и способности усиливать адсорбцию белков и клеточную адгезию [14]. Вместе с тем большинство опубликованных работ посвящено изучению отдельных материалов, тогда как комплексные сравнительные исследования различных источников фиброина и их композитов с хитозаном в сопоставимых условиях встречаются относительно редко.

В связи с этим целью настоящей работы являлось сравнительное исследование адгезии и пролиферации фибробластов *in vitro* на пленочных покрытиях из фиброина домашнего шелка *Bombyx mori*, фиброина дикого шелка Тусса и их композитов с хитозаном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение раствора фиброина шелка *Bombyx mori*

Раствор фиброина домашнего шелка получали из коконов шелкопряда *Bombyx mori*, которые были предоставлены директором Государственного научного учреждения «Республиканская научно-исследовательская станция шелководства Российской академии сельскохозяйственных наук» В.В. Богословским (Ставропольский край, г. Железноводск). Раствор получали по ранее описанной методике с незначительными модификациями [15]. Коконы измельчали и очищали от серицина (дегуммировали) в водном растворе гидрокарбоната натрия концентрацией 2,5 мг/мл (HiMedia Laboratories, Индия) при температуре 80 °C в течение 80 мин. После удаления серицина материал промывали для удаления остаточных солей: трижды выдерживали в дистиллированной воде при 99 °C по 30 минут с промежуточным ополаскиванием при комнатной температуре. Очищенный материал тщательно высушивали при 85 °C.

Растворение очищенного фиброина проводили в смеси дистиллированной воды, 95% этанола (КОНСТАНТА-ФАРМ М, Россия) и хлорида кальция (Sharlab S.L., Испания) в молярном соотношении 8 : 2 : 1 соответственно. Растворение осуществляли при непрерывном перемешивании при 90 °C в течение 40 мин до получения однородного раствора. Очистку раствора от хлорида кальция и этанола проводили методом десятикратного диализа в дистиллированной воде при 20 °C с интервалами 30 мин между сменами воды. После диализа раствор центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин на центрифуге SIGMA 6K10 2000W (Sigma, Германия) для удаления нерастворимых частиц. Перед использованием готовый раствор доводили до концентраций 20 мг/мл для покрытий из чистого фиброина и 40 мг/мл для приготовления покрытий с хитозаном.

Получение раствора фиброина дикого шелка (Tussah)

Ткань из дикого шелка Tussah (декларация о соответствии EAC N RU Д-CN.PA09.B.91575/23, Tianjin Textile Industrial Supply And Sale Co., Ltd, Китай) предварительно дегуммировали по той же методике, что и коконы *Bombyx mori*, с целью удаления серицина. После дегуммирования и тщательной промывки дистиллированной водой высушенные волокна растворяли в спиртовом растворе нитрата кальция (CDH, Индия), приготовленном при молярном соотношении спирта и нитрата кальция 2 : 1 [16]. Обработку проводили до полного растворения шелковых волокон. Полученный раствор очищали от нитрата кальция и этанола методом десятикратного диализа по аналогичной схеме, описанной для фиброина *Bombyx mori*, после чего доводили до рабочих концентраций – 20 мг/мл для покрытий из чистого фиброина и 40 мг/мл для приготовления покрытий с хитозаном.

Получение растворов фиброина с хитозаном

Водорастворимый хитозан («Биопрогресс», Россия; степень деацетилирования 75–95%, молекулярная масса 50–80 кДа) растворяли в дистиллированной воде при комнатной температуре при мягком перемешивании в течение 1 часа до получения однородного раствора с концентрацией 40 мг/мл. Полученный раствор хитозана смешивали с водными растворами фиброина шелка *Bombyx mori* и дикого шелка Тусса (40 мг/мл) в объемном соотношении 1 : 1 до получения однородных растворов. Конечная концентрация каждого компонента составляла 20 мг/мл, что соответствует массовому соотношению фиброин : хитозан = 1 : 1. Выбор конечной концентрации фиброина и хитозана (20 мг/мл) обусловлен необходимостью получения однородных стабильных систем, пригодных для формирования равномерных покрытий без признаков фазового разделения и существенного увеличения вязкости растворов. Данная концентрация фиброина используется как стандартная рабочая в серии предыдущих исследований [17] и обеспечивает воспроизводимое получение покрытий и сопоставимость результатов. Соотношение компонентов 1 : 1 было выбрано для оценки вклада каждого полимера в формирование клеточного ответа.

Получение покрытий

Покрытия получали методом литья растворов фиброина шелка *Bombyx mori* и дикого шелка Tussah с добавлением или без добавления хитозана в чашки Петри диаметром 35 мм (Corning, США). Для каждого покрытия использовали по 1 мл соответствующего раствора. Образцы сушили при комнатной температуре в течение 48 ч. Перед использованием покрытия стерилизовали – в каждую чашку Петри вносили 70% раствор этанола в объеме, обеспечивающем полное покрытие поверхности материала и стенок чашки (2–3 мл), после чего высушивали в стерильных условиях. Перед нанесением клеток покрытия промывали фосфатно-солевым буфером (PBS) не менее 5 раз для удаления остаточных следов этанола.

Условия культивирования клеток

В работе использовали мышиные фибробласты линии NIH 3T3. Клетки культивировали в среде DMEM («ПанЭко», Россия), дополненной 10% эмбриональной бычьей сыворотки (HyClone, США) и раствором гентамицина (Sigma, Израиль). Культивирование проводили при температуре 37 °C в увлажненной атмосфере с содержанием 5% CO_2 в инкубаторе MCO-15AC (Sanyo, Япония) в культуральных флаконах площадью 75 см^2 (Costar, США). Пассирование клеток осуществляли с использованием 0,25% раствора трипсин-ЭДТА («ПанЭко», Россия). Морфологию клеток регулярно контролировали с помощью инвертированного микроскопа Axiovert 405M (ZEISS, Германия). Перед проведением экспериментов клетки поддерживали в диапазоне конфлюэнтности 20–80%. Все манипуляции с клеточными культурами выполняли в стерильных условиях в ламинарном боксе MSC.12 NF IX BROSS (JOUAN, Франция).

Оценка цитотоксичности (МТТ-тест)

Цитотоксичность покрытий оценивали методом исследования экстрактов в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-5. Экстракты получали путем инкубации образцов в культуральной среде при 37 °C в течение 24 ч при соотношении площади поверхности образца к объему среды 3 см^2 на 1 мл. Полученные экстракты использовали без дополнительного разведения.

Фибробласты NIH 3T3 высевали в 96-луночные планшеты (Costar, США) с плотностью $1{,}5 \times 10^4$ клеток/лунку и инкубировали в течение 24 ч. Затем культуральную среду заменяли соответствующими экстрактами и продолжали инкубацию еще 24 ч. В качестве групп сравнения использовали чистую среду и среду с добавлением 5% (об./об.) DMSO (PanReac, Германия).

После инкубации в лунки добавляли реагент МТТ (CDH, Индия) до конечной концентрации 0,5 мг/мл и инкубировали планшеты при 37 °C в течение 3 ч. Образовавшиеся кристаллы формазана растворяли в DMSO, после чего оптическую плотность измеряли при длине волны 540 нм с использованием ридера Multiskan Ascent (Thermo Labsystems, Финляндия). Метаболическую активность клеток оценивали по значениям оптической плотности относительно групп сравнения.

Исследование адгезии и пролиферации клеток

Для исследования адгезии фибробласты NIH 3T3 высевали на полученные покрытия с плотностью $1{,}4 \times 10^5$ клеток на чашку и инкубировали в течение 1 часа в стандартных условиях культивирования. В качестве групп сравнения использовали культуральный пластик с чистой средой и среду, содержащую 2 мМ ЭДТА (PanReac, Германия). После инкубации неадгезировавшие клетки и клеточный детрит удаляли путем мягкой промывки.

Для оценки пролиферации фибробласты NIH 3T3 высевали на покрытия с плотностью $7{,}2 \times 10^4$ клеток на чашку Петри и культивировали в течение 3 суток с анализом на 1-е, 2-е и 3-и сутки. В качестве групп сравнения использовали культуральный пластик с чистой средой и со средой с добавлением DMSO. Для удаления неадгезировавших и погибших клеток замену среды проводили один раз на 1-е сутки; дальнейшие замены среды не осуществляли с целью минимизации риска контаминации. На протяжении всего эксперимента использовали одну и ту же полную культуральную среду.

По завершении инкубации клетки фиксировали 4% раствором параформальдегида (PanReac, Германия) в течение 5 мин в объеме, достаточном для полного покрытия поверхности материала. После промывки образцы инкубировали в растворе Triton X-100 концентрацией 0,4% (Sigma-Aldrich, США) в течение 5 мин с последующей промывкой фосфатно-солевым буфером (ServiceBio, Китай). Далее образцы инкубировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера, содержащего 1 мкл DAPI (Lumiprobe, Россия). Флуоресцентную съемку проводили с использованием микроскопа Axio Vert.A1 (ZEISS, Германия) при идентичных параметрах регистрации для всех образцов.

Обработка изображений и количественный анализ клеток

Флуоресцентные изображения обрабатывали и анализировали с использованием программного обеспечения Fiji/ImageJ. Для обеспечения воспроизводимости и минимизации пользовательской предвзятости ко всем изображениям применяли единый автоматизированный алгоритм анализа. Этапы обработки включали преобразование изображений в 8-битный формат, снижение фоновой флуоресцен-

ции, коррекцию контраста и бинаризацию изображений.

Количественный учет клеток осуществляли методом автоматического анализа частиц с идентификацией и подсчетом окрашенных ядер на основе заранее заданных пороговых значений по размеру и округлости. Перекрывающиеся ядра обрабатывались программным обеспечением с использованием одинаковых параметров для всех образцов. Алгоритм автоматически анализировал все изображения в заданной папке, формировал сводные таблицы с числом клеток и сохранял аннотированные изображения с выделенными контурами ядер для визуальной верификации.

Изображения получали из случайно выбранных областей в пределах центральной зоны чашки Петри диаметром около 2 см. Для основного количественного анализа использовали по 10 полей зрения каждого образца. Для оценки вариабельности дополнительно выделяли области интереса внутри изображений, а полученные значения масштабировали к полной площади изображения при представлении данных. Для всех экспериментальных групп использовали идентичные параметры съемки и обработки изображений.

Анализ данных

Количественные данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение для каждого показателя. Для экспериментов по цитотоксичности результаты МТТ-теста выражены в виде значений оптической плотности, нормированных относительно группы с чистой средой. Для экспериментов по адгезии и пролиферации количественные данные получали на основе автоматического подсчета окрашенных ядер. Статистическую значимость различий между группами оценивали с использованием теста ANOVA, при этом значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитотоксичность

Цитотоксическое воздействие экстрактов покрытий на фибробласты оценивали с использованием МТТ-теста (рис. 1).

По результатам МТТ-теста группа с добавлением цитотоксического агента характеризовалась заметно более низкими значениями оптической плотности по сравнению с другими экспериментальными группами. Все исследованные покрытия и группа с чистой средой демонстрировали близкие между собой значения оптической плотности, без выраженных различий между образцами. Статистический анализ показал отсутствие значимых различий между экспериментальными группами и средой без добавок ($p > 0,05$), что указывает на отсутствие заметного цитотоксического воздействия исследованных материалов и сохранение жизнеспособности клеток в условиях проведенного эксперимента.

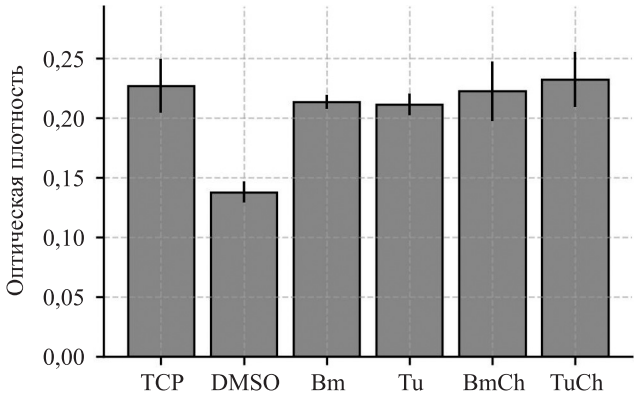


Рис. 1. Оценка цитотоксичности пленочных покрытий методом МТТ-теста. Метаболическая активность фибробластов линии NIH 3T3 после инкубации с экстрактами покрытий из фиброина *Bombyx mori* (Bm), фиброина *Bombyx mori* с хитозаном (BmCh), фиброина дикого шелка (Tu) и фиброина дикого шелка с хитозаном (TuCh). Культуральный пластик (TCP), клетки в стандартной культуральной среде; культуральный пластик (DMSO), клетки в среде с добавлением цитотоксического агента. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение. Оптическая плотность измерена при длине волны 540 нм

Fig. 1. Assessment of cytotoxicity of film coatings using the MTT assay. Metabolic activity of NIH 3T3 fibroblasts after incubation with extracts of coatings based on *Bombyx mori* fibroin (Bm), *Bombyx mori* fibroin with chitosan (BmCh), wild silk fibroin (Tu), and wild silk fibroin with chitosan (TuCh). Controls included tissue culture plastic (TCP; cells in standard culture medium) and DMSO-treated cells (medium supplemented with a cytotoxic agent). Data are presented as mean ± standard deviation. Optical density was measured at 540 nm

Адгезия клеток

Результаты оценки адгезии клеток после 1 часа инкубации представлены на рис. 2.

Адгезия клеток фибробластов на исследованных покрытиях была существенно выше по сравнению с группой с EDTA, демонстрирующим снижение начальной адгезии. Все покрытия способствовали более высокой адгезии по сравнению со средой без добавок. Покрытия из фиброина *Bombyx mori* и дикого шелка обеспечивали сопоставимый уровень прикрепления клеток, тогда как их композиты с хитозаном увеличивали число прикрепившихся клеток примерно на 20–25% по сравнению с чистыми покрытиями.

Пролиферация клеток

Результаты исследования пролиферации клеток представлены количественными данными и характерными микроскопическими изображениями клеточного роста (рис. 3, 4).

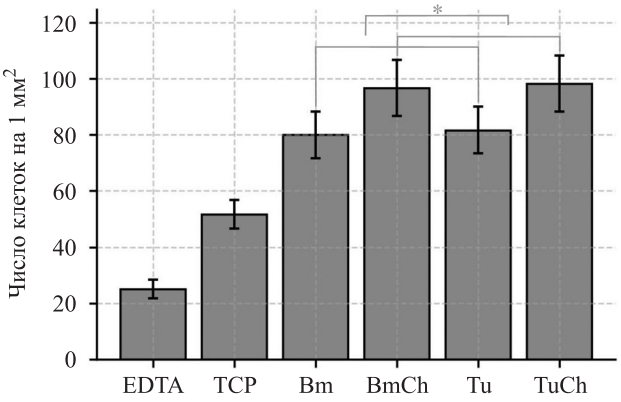


Рис. 2. Оценка адгезии фибробластов на пленочных покрытиях через 1 ч культивирования. Число фибробластов линии NIH 3T3, адгезировавших на покрытиях из фиброина *Bombyx mori* (Bm), фиброина *Bombyx mori* с хитозаном (BmCh), фиброина дикого шелка (Tu) и фиброина дикого шелка с хитозаном (TuCh). Культуральный пластик (TCP), клетки в стандартной культуральной среде; культуральный пластик (EDTA), клетки в среде с добавлением EDTA. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение. * – $p < 0,05$

Fig. 2. Assessment of fibroblast adhesion to film coatings after 1 hour of culture. Number of NIH 3T3 fibroblasts adhering to coatings based on *Bombyx mori* fibroin (Bm), *Bombyx mori* fibroin with chitosan (BmCh), wild silk fibroin (Tu), and wild silk fibroin with chitosan (TuCh). Controls included tissue culture plastic (TCP; cells in standard culture medium) and EDTA-treated culture plastic (cells in medium supplemented with EDTA). Data are presented as mean ± standard deviation. $p < 0.05$

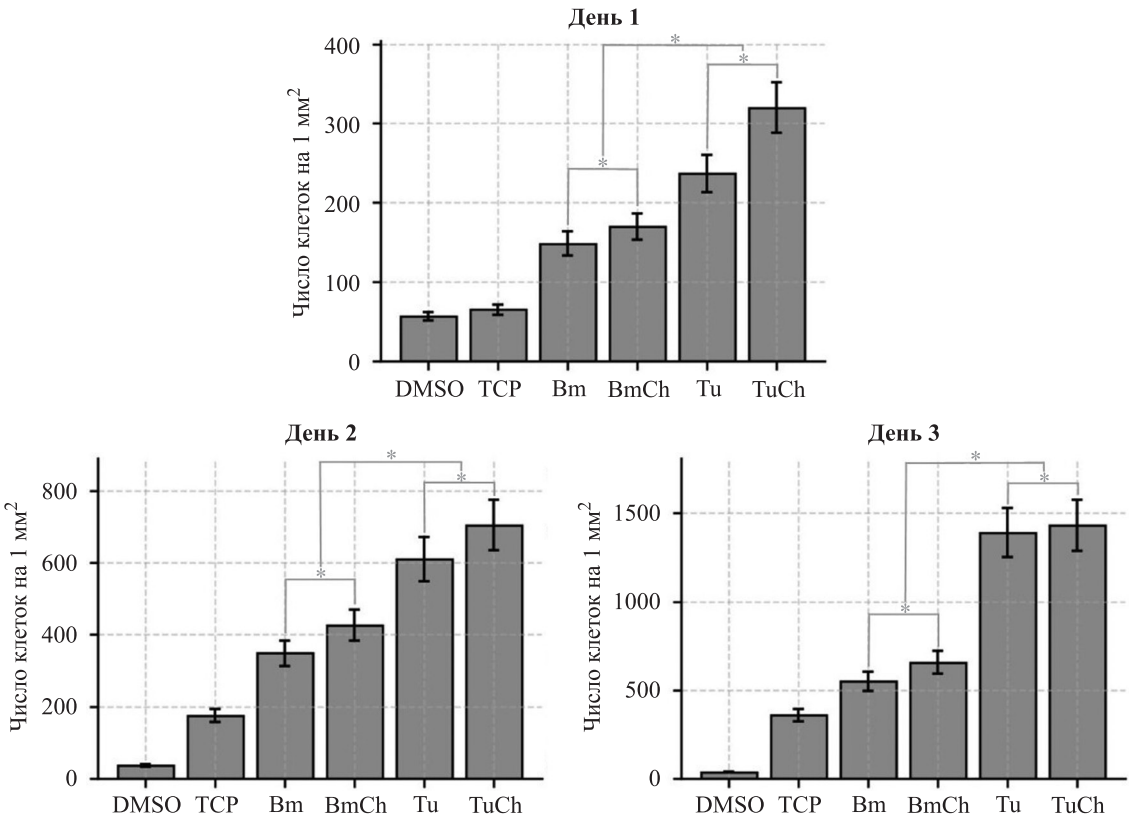


Рис. 3. Пролиферация фибробластов на пленочных покрытиях в течение 3 суток культивирования. Число фибробластов линии NIH 3T3 на покрытиях из фиброина *Bombyx mori* (Bm), фиброина *Bombyx mori* с хитозаном (BmCh), фиброина дикого шелка (Tu) и фиброина дикого шелка с хитозаном (TuCh) через 1, 2 и 3 суток после засева. Культуральный пластик (TCP), клетки в стандартной культуральной среде; культуральный пластик (DMSO), клетки в среде с добавлением цитотоксического агента. Данные представлены как среднее значение ± стандартное отклонение. * – $p < 0,05$

Fig. 3. Fibroblast proliferation on film coatings over a 3-day culture period. Number of NIH 3T3 fibroblasts on coatings based on *Bombyx mori* fibroin (Bm), *Bombyx mori* fibroin with chitosan (BmCh), wild silk fibroin (Tu), and wild silk fibroin with chitosan (TuCh) at 1, 2, and 3 days after seeding. Controls included tissue culture plastic (TCP; cells in standard culture medium) and DMSO-treated cells (culture medium supplemented with a cytotoxic agent). Data are presented as mean ± standard deviation. $p < 0.05$

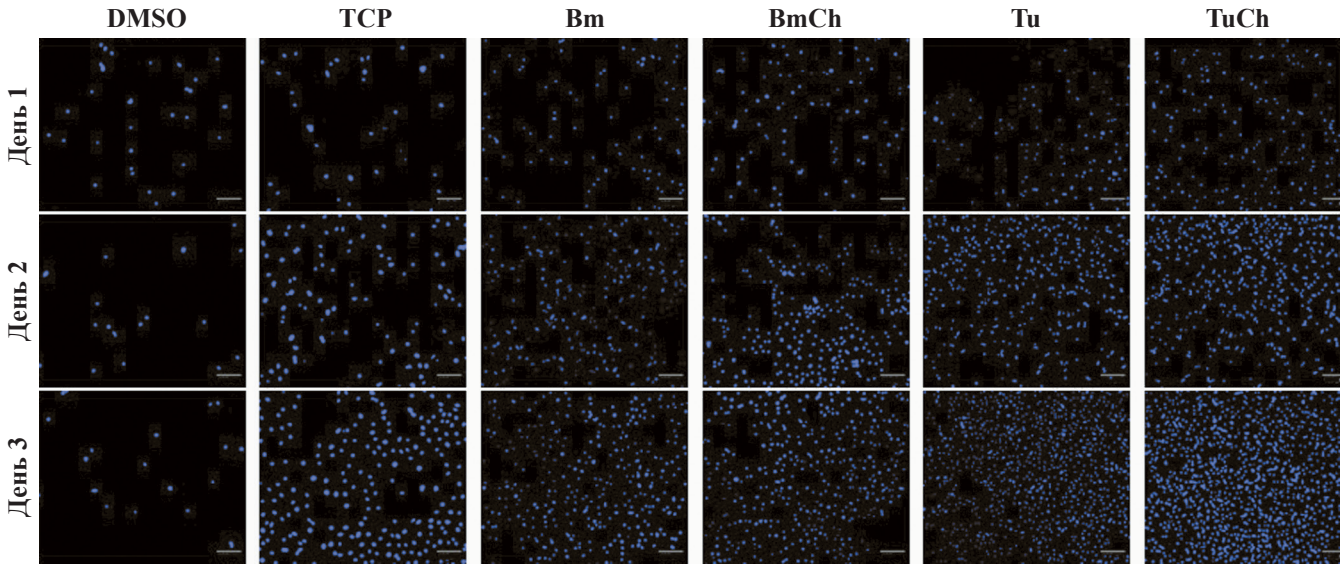


Рис. 4. Репрезентативные флуоресцентные изображения фибробластов на пленочных покрытиях в процессе пролиферации. Фибробласты линии NIH 3T3, окрашенные DAPI, на покрытиях из фиброина *Bombyx mori* (Bm), фиброина *Bombyx mori* с хитозаном (BmCh), фиброина дикого шелка (Tu) и фиброина дикого шелка с хитозаном (TuCh), в чистой среде (TCP) и среде с DMSO (DMSO) через 1, 2 и 3 суток культивирования. Масштабная линейка 100 мкм

Fig. 4. Representative fluorescence microscopy images of fibroblasts cultured on film coatings during the proliferation. NIH 3T3 fibroblasts were stained with DAPI and cultured on coatings based on *Bombyx mori* fibroin (Bm), *Bombyx mori* fibroin with chitosan (BmCh), wild silk fibroin (Tu), and wild silk fibroin with chitosan (TuCh), as well as on tissue culture plastic in standard medium (TCP) and in medium supplemented with DMSO (DMSO), after 1, 2, and 3 days of culture. Scale bar: 100 μm

В группе с DMSO число клеток было существенно снижено на всех временных точках. В группе с чистой средой наблюдалось стабильное увеличение числа клеток в течение всего периода культивирования.

Все исследованные покрытия поддерживали рост клеток на протяжении всего эксперимента. Уже на 1-е сутки количество фибробластов на покрытии из фиброина дикого шелка Tussah было примерно на 60% выше, чем на покрытии из фиброина домашнего шелка *Bombyx mori*, и на 41% выше, чем на покрытии *Bombyx mori* с хитозаном.

На 2-е сутки разница между покрытием из фиброина дикого шелка и покрытием из композита фиброина домашнего шелка с хитозаном достигала 44%, а на 3-й день превысила 100%. Покрытия из дикого шелка стабильно обеспечивали более высокий рост клеток по сравнению с покрытием из домашнего шелка *Bombyx mori* с хитозаном на всех временных точках, а включение хитозана дополнительно усиливало пролиферацию.

Таким образом, полученные данные демонстрируют устойчивое преимущество покрытий из дикого шелка Tussah и его композитов с хитозаном в стимулировании пролиферации фибробластов *in vitro*.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе были исследованы покрытия на основе фиброина *Bombyx mori*, фиброина дикого шелка (Tussah) и их композитов с хитозаном. Исследовалась их цитотоксичность, а также способность поддерживать адгезию и пролиферацию фибробластов *in vitro*. Все исследованные материалы обеспечивали сохранение жизнеспособности клеток, что указывает на отсутствие выраженных цитотоксических эффектов и свидетельствует о том, что наблюдаемые различия в клеточном ответе обусловлены особенностями клеточно-поверхностных взаимодействий, а не токсичностью материалов. Использование фиброина *Bombyx mori* в качестве базового эталонного материала позволило сфокусироваться на сравнительном анализе вклада физико-химической характеристики поверхности и внутренних биохимических сигналов в регуляцию клеточного поведения на покрытиях.

Оценка ранней адгезии проводилась через 1 час после засева – на временной точке, когда фибробласты взаимодействуют с подложкой в округлом, не поляризованном состоянии и еще не сформировали устойчивых фокальных контактов [18]. В этих условиях успешная адгезия клеток связана с сохранением транзиторных интегрин-поверхностных контактов, достаточных для инициации перестройки цитоскелета и последующего распластывания [19]. По сравнению с фиброином *Bombyx mori* покрытия, содержащие хитозан, обеспечивали более высокое число адгезировавших клеток, тогда как фиброин дикого

шелка демонстрировал сопоставимые уровни ранней адгезии. Усиление ранней адгезии на композитах с хитозаном согласуется с ролью хитозана как стабилизирующего компонента, способствующего электростатическим взаимодействиям и адсорбции белков, что увеличивает время жизни первичных контактов клетки с поверхностью [20]. В то же время сходные уровни ранней адгезии, наблюдаемые у фиброина дикого шелка и фиброина *Bombyx mori*, указывают на то, что показатели начального прикрепления не полностью отражают материал-зависимые различия, проявляющиеся при более длительном культивировании.

В ходе оценки пролиферации данные различия становились более выраженными и демонстрировали устойчивую иерархию, при которой покрытия на основе фиброина дикого шелка обеспечивали более высокую плотность клеток по сравнению с покрытиями на основе фиброина *Bombyx mori* на всех временных точках. Примечательно, что фиброин дикого шелка в виде однокомпонентного материала превосходил по уровню пролиферации композит фиброина *Bombyx mori* с хитозаном, несмотря на более выраженную раннюю адгезию на последнем. Это наблюдение свидетельствует о том, что улучшение начального прикрепления или стабилизация поверхности сами по себе не являются достаточными для объяснения устойчивого клеточного роста, и указывает на существование различных механизмов, регулирующих адгезию на этапе первичного контакта и в ходе последующих циклов клеточного деления.

Пролиферация адгезированных фибробластов требует успешной повторной адгезии после митоза – фазы, в которой клетки округляются, разборки фокальных контактов и перераспределения интегринов. После цитокинеза каждая дочерняя клетка должна быстро восстановить интегрин-опосредованные контакты с подложкой для распластывания, генерации тяговых сил и повторного входа в клеточный цикл. При ограниченной доступности адгезивных сигналов процесс постмитотической повторной адгезии приобретает вероятностный характер, в результате чего даже незначительные различия в доступности лигандов могут существенно влиять на вероятность сохранения стабильной адгезии обеими дочерними клетками. В этом контексте биохимические сигналы, непосредственно поддерживающие кластеризацию интегринов и последующую передачу сигналов, играют определяющую роль. Соответственно, стабильно более высокая пролиферация на фиброине дикого шелка указывает на то, что внутренние молекулярные особенности данного материала повышают вероятность успешной постмитотической повторной адгезии и поддержания интегрин-опосредованной сигнализации.

Представленная концепция позволяет объяснить, почему фиброин дикого шелка превосходит композит фиброина *Bombyx mori* с хитозаном по показателям пролиферации. В то время как хитозан улучшает раннюю адгезию за счет стабилизации неспецифических взаимодействий, он не вносит новых интегрин-специфичных адгезивных мотивов. Напротив, фиброин дикого шелка содержит последовательности, ассоциированные с клеточной адгезией, включая RGD-мотивы, которые могут способствовать рецепторному связыванию в критический постмитотический период. В результате фиброин дикого шелка способен поддерживать более эффективное клеточное размножение во времени даже без добавления дополнительных стабилизирующих компонентов. С точки зрения материаловедения это является принципиально важным результатом, демонстрирующим, что природный биологически активный полимер может превосходить композитные системы, созданные для компенсации ограничений традиционного фиброина.

Наибольшее суммарное число клеток наблюдалось на композитных покрытиях из фиброина дикого шелка с хитозаном, что указывает на синергетический эффект данных компонентов. В этом случае хитозан повышает стабильность начального прикрепления и снижает потери клеток на ранних этапах, тогда как фиброин дикого шелка обеспечивает биохимические сигналы, увеличивающие вероятность успешной повторной адгезии в процессе и после митоза. Совокупность этих эффектов формирует поверхность, способную поддерживать как устойчивую раннюю адгезию, так и эффективную долгосрочную пролиферацию. Стабильное превосходство композитных покрытий из фиброина дикого шелка с хитозаном в тестах как на адгезию, так и на пролиферацию указывает на то, что интеграция фиброина дикого шелка с хитозаном является эффективной стратегией максимизации биологической эффективности шелковых систем.

В целом, выявленная последовательность – *Bombyx mori* < *Bombyx mori* с хитозаном < Tussah < Tussah с хитозаном – подчеркивает, что ранняя адгезия и устойчивый клеточный рост регулируются различными, но взаимодополняющими механизмами. Если на начальной стадии доминирует поверхностно-опосредованная стабилизация контактов, то долговременная пролиферация в большей степени определяется способностью материала поддерживать интегрин-опосредованную сигнализацию на протяжении последовательных клеточных циклов.

Полученные данные показывают, что фиброин дикого шелка может служить перспективной альтернативой традиционному фиброину *Bombyx mori* для биоматериалов, и выделяют композиты на основе дикого шелка и хитозана как еще более эффективные

субстраты для стимуляции пролиферации фибробластов. Вместе с тем следует учитывать, что все выводы основаны на использовании иммортализованной мышиной клеточной линии NIH 3T3, которая отражает лишь общий характер клеточного ответа *in vitro* и не в полной мере воспроизводит поведение первичных человеческих дермальных фибробластов. Поэтому полученные результаты следует рассматривать как сравнительное исследование, требующее дальнейшей валидации на первичных клетках человека и более физиологически релевантных моделях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе были получены и исследованы покрытия на основе фиброина *Bombyx mori*, фиброина дикого шелка и их композитов с хитозаном с целью оценки адгезии и пролиферации фибробластов *in vitro*. Все исследованные материалы продемонстрировали хорошую цитосовместимость и поддерживали прикрепление и рост клеток, что подтверждает их пригодность для применения в качестве клеточно-поддерживающих поверхностных материалов.

Сравнительный анализ показал, что как введение хитозана, так и использование фиброина дикого шелка приводят к усилению клеточного ответа по сравнению с фиброином *Bombyx mori*. Покрытия с добавлением хитозана способствовали улучшенной ранней адгезии клеток, тогда как покрытия на основе фиброина дикого шелка обеспечивали более высокий уровень клеточной пролиферации с течением времени, превышая в два раза показатели пролиферации на композитном покрытии из фиброина *Bombyx mori* с хитозаном. Наиболее выраженные биологические показатели были зафиксированы для композитных покрытий на основе фиброина дикого шелка с хитозаном, что отражает благоприятное сочетание свойств данных компонентов.

Полученные данные подчеркивают перспективность использования фиброина дикого шелка не только в качестве альтернативы традиционному фиброину *Bombyx mori* для создания пленочных биоматериалов, но и для разработки различных типов биоматериалов на его основе. Комбинирование фиброина дикого шелка с хитозаном демонстрирует потенциал для усиления клеточно-поверхностных взаимодействий и повышения функциональной активности таких материалов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Tremel A, Cai A, Tirtaatmadja N, Hughes BD, Stevens GW, Landman KA et al*. Cell migration and proliferation during monolayer formation and wound healing. *Chem Eng Sci*. 2009; 64: 247–253. doi: 10.1016/j.ces.2008.10.008.
2. *Hynes RO*. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*. 2002; 110 (6): 673–687. doi: 10.1016/S0092-8674(02)00971-6.
3. *Parsons JT, Horwitz AR, Schwartz MA*. Cell adhesion: integrating cytoskeletal dynamics and cellular tension. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 11: 633–643. doi: 10.1038/nrm2957.
4. *Murphy WL, McDevitt TC, Engler AJ*. Materials as stem cell regulators. *Nat Mater*. 2014; 13: 547–557. doi: 10.1038/nmat3937.
5. *Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J et al*. Silk-based biomaterials. *Biomaterials*. 2003; 24 (3): 401–416. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00353-8.
6. *Sahoo JK, Hasturk O, Falcucci T, Kaplan DL*. Silk chemistry and biomedical material designs. *Nat Rev Chem*. 2023; 7: 302–318. doi: 10.1038/s41570-023-00486-x.
7. *Hu X, Lu Q, Kaplan DL, Cebe P*. Microphase separation controlled β-sheet crystallization kinetics in fibrous proteins. *Macromolecules*. 2009; 42: 2079–2087. doi: 10.1021/ma802481p.
8. *Rockwood DN, Preda RC, Yücel T, Wang X, Lovett ML, Kaplan DL*. Materials fabrication from *Bombyx mori* silk fibroin. *Nat Protoc*. 2011; 6 (10): 1612–1631. doi: 10.1038/nprot.2011.379.
9. *Агапова ОИ, Агапов ИИ*. Биодеградируемые изделия на основе фиброина шелка для тканевой инженерии и регенеративной медицины. М.: Техносфера, 2018: 14–64. *Agapova OI, Agapov II*. Biodegradiruemye izdelija na osnove fibroina shelka dlya tkanevoj inzhenerii i regenerativnoj meditsiny. M.: Tekhnosfera, 2018: 14–64.
10. *Подболотова ЕИ, Пашутин АР, Грудинин НВ, Агапова ОИ, Ефимов АЕ, Агапов ИИ*. Исследование механических и структурных свойств шелковых скаффолдов для тканевой инженерии и реконструктивной хирургии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (4): 125–132. *Podbolotova EI, Pashutin AR, Grudinin NV, Agapova OI, Efimov AE, Agapov II*. Silk-based scaffolds for tissue engineering and reconstructive surgery: mechanical and structural properties. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (4): 125–132. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2025-4-125-132.
11. *Safonova L, Bobrova M, Efimov A, Lyundup A, Agapova O, Agapov I*. A Comparative Analysis of the Structure and Biological Properties of Films and Microfi brous Scaffolds Based on Silk Fibroin. *Pharmaceutics*. 2021 Sep 26; 13 (10): 1561. doi: 10.3390/pharmaceutics13101561.
12. *Pashutin A, Podbolotova E, Kirsanova L, Dosi O, Efimov AE, Agapova O, Agapov I*. Silk fibroin microparticle/carboxymethyl cellulose composite gel for wound healing applications. *Biomimetics*. 2025; 10 (7): 434. doi: 10.3390/biomimetics10070434.
13. *Minoura N, Aiba S, Gotoh Y, Tsukada M, Imai Y*. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk

protein matrices. *J Biomed Mater Res*. 1995; 29: 1215–1221. doi: 10.1002/jbm.820291008.
14. *Dash M, Chiellini F, Ottenbrite RM, Chiellini E*. Chitosan – a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Prog Polym Sci*. 2011; 36 (8): 981–1014. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.02.001.
15. *Ajisawa A*. Dissolution of silk fibroin with calcium chloride/ethanol aqueous solution: Studies on the dissolution of silk fibroin. (IX). *J Seric Sci Jpn*. 1998; 67 (2): 91–94.
16. *Zhang H, Li LL, Dai FY, Zhang HH, Ni B, Zhou W et al*. Preparation and characterization of silk fibroin as a biomaterial with potential for drug delivery. *J Transl Med*. 2012, 10: 117. doi: 10.1186/1479-5876-10-117.
17. *Сафонова ЛА, Боброва ММ, Агапова ОИ, Архипова АЮ, Гончаренко АВ, Агапов ИИ*. Пленки на основе фиброина шелка для заживления полнослойной раны кожи у крыс. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; 18 (3): 74–84. *Safonova LA, Bobrova MM, Agapova OI, Arkhipova AYu., Goncharenko AV, Agapov II*. Fibroin silk based films for rat's full-thickness skin wound regeneration. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; 18 (3): 74–84. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2016-3-74-84.
18. *Partridge MA, Marcantonio EE*. Initiation of attachment and generation of mature focal adhesions by integrin-containing filopodia in cell spreading. *Mol Biol Cell*. 2006 Oct; 17 (10): 4237–4248. doi: 10.1091/mbc.e06-06-0496.
19. *Keselowsky BG, Collard DM, García AJ*. Surface chemistry modulates fibronectin conformation and directs integrin binding and specificity to control cell adhesion. *J Biomed Mater Res A*. 2003 Aug 1; 66 (2): 247–259. doi: 10.1002/jbm.a.10537. PMID: 12888994.
20. *Yadav H, Malviya R, Kaushik N*. Chitosan in biomedicine: A comprehensive review of recent developments. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 2024; 8: 100551. doi: 10.1016/j.carpta.2024.100551.

Статья поступила в редакцию 12.03.2026 г.
The article was submitted to the journal on 12.03.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-173-187

СОВРЕМЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕРМЫ КОЖИ: ПРИНЦИПЫ ПОЛУЧЕНИЯ И СОВРЕМЕННЫЕ БЕСКЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ НА ИХ ОСНОВЕ

Е.В. Сытина[1], А.А. Алексеев[2], А.А. Пантелеев[1, 2]

[1] ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Российская Федерация

[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Проблема заживления обширных и глубоких ран и ожогов является чрезвычайно актуальной в современной хирургии. Большинство сложностей в этой области связано с дисфункцией пораженной дермы – соединительно-тканной основы кожи. Без ее полноценного восстановления нельзя ожидать удовлетворительных результатов лечения ран в долгосрочной перспективе. Данный обзор посвящен рассмотрению искусственных бесклеточных скаффолдов для восстановления дермы, а также основным принципам дизайна таких материалов. Выбранные для рассмотрения скаффолды (Integra, Гиаматрикс, SmartMatrix, NovoSorb) уже сегодня активно применяются в клинической практике и отлично себя зарекомендовали. В настоящее время подавляющее большинство коммерческих продуктов для замещения дермы (как и вообще для тканевой инженерии) производится за рубежом. Оценка зарубежного опыта и его применение для разработки отечественных скаффолдов сделают такие продукты более доступными для пациентов.

Ключевые слова: кожная рана, контракция, ожоги, тканевая инженерия, безрубцовое заживление, скаффолд.

MODERN MATERIALS FOR DERMAL SKIN SUBSTITUTE: PRINCIPLES OF PRODUCTION AND MODERN ACELLULAR PRODUCTS BASED ON THEM

E.V. Sytina[1], A.A. Alekseev[2], A.A. Panteleyev[1, 2]

[1] Kurchatov Institute, Moscow, Russian Federation

[2] Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

The treatment of extensive and deep wounds and burns remains a highly pressing issue in modern surgery. Many of the associated challenges are linked to dysfunction of the dermis – the connective tissue matrix of the skin. Without its full restoration, achieving satisfactory long-term wound healing outcomes is difficult. This review focuses on artificial acellular scaffolds for dermal regeneration, as well as the fundamental principles underlying their design. The scaffolds discussed (Integra, Giamatrix, SmartMatrix, and NovoSorb) are already widely used in clinical practice today and have demonstrated high effectiveness. Currently, most commercially available dermal substitute products, as well as tissue engineering solutions in general, are manufactured abroad. Therefore, evaluating international experience and applying it to the development of Russian-made scaffolds could significantly improve their accessibility for patients.

Key words: skin wound, contraction, burns, tissue engineering, scarless healing, scaffold.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема заживления обширных и глубоких ран и ожогов является чрезвычайно актуальной в современной хирургии. Общепринятым способом эффективного восстановления обширных раневых поверхностей является кожная пластика с использо-

Для корреспонденции: Сытина Елена Вячеславовна. Адрес: 123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1. Тел. (495) 196-71-00, доб. 63-47. E-mail: esytina@mail.ru

Corresponding author: Elena Sytina. Address: 1, Plochad Akademika Kurchatova, Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (495) 196-71-00 *63-47. E-mail: esytina@mail.ru

ванием расщепленного кожного трансплантата [1, 2]. После пересадки такие трансплантаты быстро васкуляризуются и обеспечивают восстановление целостности кожного покрова. При этом, несмотря на решение жизненно важной задачи – восстановления эпидермального барьера, – долгосрочный результат таких операций не всегда предсказуем: нередко наблюдается образование рубцовых деформаций и контрактур, а также снижение чувствительности кожи, нарушение пигментации, появление зуда и болевого синдрома [3]. Большинство этих проблем, весьма характерных для глубоких ранений и обширных ожогов, связано с дисфункцией пораженной дермы – соединительно-тканной основы кожи. Даже при успешном закрытии (эпителизации) раны необходимость в предварительном восстановлении дермального слоя является очевидной, особенно в случае глубоких ожогов с повреждением подлежащих фасций и костно-мышечных структур. Кроме того, в случае обширных ожогов (более 60% поверхности тела) остро стоит проблема дефицита неповрежденной кожи, которую можно использовать для восстановления кожного покрова в качестве аутотрансплантата [4]. Надо отметить, что основной задачей хирурга является восстановление целостности кожного покрова в возможно более короткие сроки, что позволяет уменьшить рубцевание тканей, а также снизить вероятность инфицирования, а значит, и вероятность косметических и функциональных осложнений в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде за счет заживления раны первичным натяжением [5]. Без аутотрансплантации эта задача на сегодня неразрешима. А успешное приживление кожного трансплантата возможно только при наличии функциональной дермы.

В последние годы благодаря достижениям в области тканевой инженерии и материаловедения был разработан целый ряд продуктов для замещения кожи. Подобные материалы хотя и не устраняют полностью необходимость в пересадке аутологичной кожи при глубоких ожогах, все же позволяют минимизировать некоторые проблемы практической комбустиологии. В частности, использование искусственных аналогов кожи может обеспечить следующие клинические преимущества:

– эффективную защиту раневой поверхности от инфекции и потери влаги;
– обеспечение стабильной и в то же время биоразлагаемой основы (матрицы или скаффолда) для восстановления структуры дермы;
– возможность введения в раневое поле дополнительного клеточного материала (как аутологичных, так и аллогенных фибробластов), обеспечивающего стимуляцию процесса ранозаживления;
– стимуляцию адекватной синтетической активности фибробластов, в результате которой формируется нормальная, а не фиброзная ткань;
– обеспечение простоты перевязок, снижение их числа и защиту раны от механических воздействий.

На сегодняшний день нет универсального общепризнанного (эталонного) искусственного заменителя кожных покровов. В клинической практике применяется целый ряд заместителей кожи различных типов: продукты на основе консервированной и децеллюляризованной кожи животных и человека (EpiFix, Matriderm, Integra PriMatrix, OASIS Wound Matrix, Alloderm), искусственные аналоги кожи из природных и синтетических полимеров как без клеток (Integra, Pelnac, SmartMatrix, NovoSorb, Hyalomatrix), так и содержащие клеточные компоненты – аллогенные (Orcel) или аутологичные (MyDerm) [6, 7]. Среди отечественных разработок наиболее широкое применение получил биопластический материал «Гиаматрикс» на основе гиалуроновой кислоты [8].

Каждый из этих продуктов обладает своими преимуществами и недостатками, а также специфическими показаниями к применению. Значительно разнится и цена материалов, предлагаемых на современном рынке. В результате выбор конкретного материала является непростой задачей для практического хирурга.

Данный обзор посвящен не столько анализу спектра современных продуктов для замещения/восстановления кожных покровов при обширных ранениях или ожогах (подобные обзоры были опубликованы ранее [6, 7, 9, 10]), сколько рассмотрению специфического сегмента этого рынка – искусственным бесклеточным скаффолдам для восстановления дермы. Для анализа были выбраны продукты, которые активно применяются в зарубежной клинической практике при обширных поражениях и глубоких сложных ранах и хорошо себя зарекомендовали (Integra, SmartMatrix, NovoSorb).

Дермальные скаффолды, как правило, применяются на первом этапе лечения и служат основой для формирования провизорного матрикса под защитой полимерного слоя, временно выполняющего функции эпителия: прежде всего защиты от инфекций и высыхания (рис. 1). Такие материалы хранятся готовыми к использованию, не требуют времени и ресурсов на подготовку и культивирование клеток, позволяют направлять процессы заживления в сторону формирования нормальной ткани. Их использование предполагает последующее восстановление эпидермиса – второй этап (рис. 1) – за счет использования расщепленного перфорированного лоскута или биоинженерного культивированного эпителия в виде

пласта либо в составе двуслойных тканеинженерных конструкций.

В настоящее время подавляющее большинство продуктов для замещения дермы (как и коммерческих продуктов для тканевой инженерии в целом) производится за рубежом. Оценка зарубежного опыта, разработка и производство отечественных скаффолдов сделают такие продукты более доступными для российских пациентов, прежде всего с точки зрения их стоимости.

ФАЗЫ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

Раневой процесс, или процесс заживления – комплекс местных и системных реакций организма, развивающихся с момента ранения до полного заживления [11]. Раневой процесс имеет три фазы, последовательно сменяющие друг друга: фаза воспаления, фаза регенерации (пролиферативная фаза) и фаза ремоделирования ткани (фаза рубцевания).

Первая фаза направлена на поддержание гомеостаза, она начинается сразу после ранения и продолжается обычно до нескольких дней. В этой начальной стадии ранозаживления инициируются регуляторные каскады, контролирующие процесс свертывания крови и вазоконстрикции, происходит образование фибринового сгустка, служащего затем субстратом для миграции клеток. Особенностью этой фазы является активное привлечение в область ранения различных типов клеток и широкого спектра регуляторных факторов, что запускает воспалительный процесс. А ее результатом становится освобождение раны от некротизированных тканей. За вазоконстрикцией следует вазодилатация, в процессе которой тромбоциты проникают в ткань и вносят свой вклад в формирование первичного матрикса для миграции клеток, а также способствуют инфильтрации лейкоцитами места повреждения.

И тромбоциты, и лейкоциты, мигрирующие в рану в ходе фазы воспаления, выделяют множество факторов, стимулирующих синтез коллагена, ангиогенез, трансформацию фибробластов в миофибробласты, а также реэпителизацию [12]. На этой, второй, стадии ранозаживления наряду с миграцией местных фибробластов вдоль фибриновых волокон и началом эпителизации с краев раны активируется образование новых сосудов (ангиогенез). В результате в фазе пролиферации в зоне повреждения происходит восстановление сосудистой сети. Процесс реэпителизации обеспечивается кератиноцитами, мигрирующими с краев раны, а также делением эпителиальных стволовых клеток волосяных фолликулов и потовых желез. Под эпителием идет активное формирование грануляционной ткани, что отмечает переход к следующей, третьей стадии ранозаживления. Данный этап характеризуется высокой концентрацией фибробластов, гранулоцитов, макрофагов, формированием большого числа капилляров и слабо организованных пучков коллагеновых фибрилл. Завершение фазы пролиферации является также и началом фазы ремоделирования ткани. Основную роль на этом этапе играют фибробласты. Именно они отвечают за образование коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса, поддерживают баланс между синтезом и деградацией его составляющих.

В процессе заживления раны компоненты внеклеточного матрикса претерпевают ряд изменений.

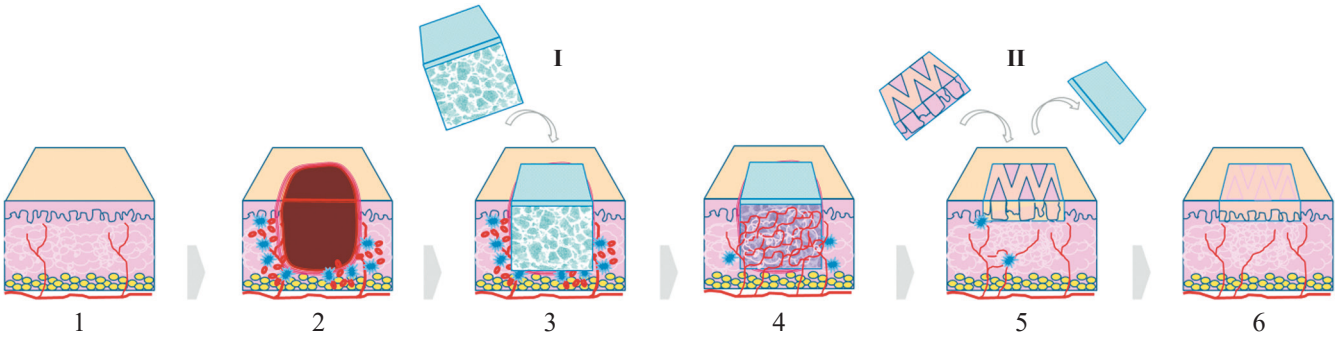


Рис. 1. Схема применения искусственных заместителей дермы при двухэтапном лечении глубоких кожных ран: этап I – восстановление дермального слоя с помощью скаффолда; этап II – восстановление эпидермального барьера с помощью расщепленного лоскута (1 – неповрежденная кожа; 2 – полнослойная кожная рана; 3 – установка дермального скаффолда с защитным слоем после хирургической обработки раны; 4 – восстановление дермы и сосудистой сети под защитным слоем; 5 – удаление защитного слоя и пересадка расщепленного лоскута на восстановленную дерму; 6 – зажившая рана)

Fig. 1. Schematic representation of the use of artificial dermal substitutes in the two-stage treatment of deep skin wounds: Stage I – restoration of the dermal layer using a scaffold; Stage II – restoration of the epidermal barrier using a split-thickness skin graft. 1 – intact skin; 2 – full-thickness skin wound; 3 – placement of a dermal scaffold with a protective layer after surgical debridement; 4 – regeneration of the dermis and vascular network beneath the protective layer; 5 – removal of the protective layer and transplantation of a split-thickness flap onto the regenerated dermis; 6 – healed wound

Коллаген III типа, сформированный во время пролиферативной фазы, замещается более плотным коллагеном I типа – маркером фазы ремоделирования. На этой стадии инициируется контракция тканей за счет трансформации фибробластов в миофибробласты, что ведет к стагиванию краев раны и сокращению ее поверхности [12]. Для кожных ран контракция межклеточного матрикса дермы является частью нормального процесса заживления. Миофибробласты генерируют сократительную силу, которая необходима для закрытия раны и ремоделирования поврежденной ткани, но их чрезмерная активность ведет к формированию грубых рубцов. В норме активность миофибробластов сходит на нет после того, как рана заживает. При этом экспрессия гладкомышечного α-актина миофибробластами снижается, и они подвергаются апоптозу [13].

Физиологически процесс заживления раны завершается образованием рубца, выраженность которого непосредственно связана со степенью воспалительной реакции на первом этапе заживления. По мнению I. Yannas, одного из ведущих исследователей процессов ранозаживления и регенерации тканей, контракция первична по отношению к рубцеванию [14]. В процессе эволюции наземных позвоночных, включая млекопитающих, способность к быстрой контракции раны, вероятно, стала одним из ключевых адаптивных факторов, поскольку она позволяет быстро минимизировать раневую поверхность, и следовательно, потерю жидкости организмом и вероятность инфицирования раны. Как показали Jiang et al., при глубоких поражениях кожи у мышей фибробласты мигрируют в рану, в том числе и из подкожной фасции, и образуют скопления, «объединяя усилия» для контракции раны за счет взаимодействия друг с другом. Этот процесс идет с участием белка межклеточной адгезии N-кадгерина [15, 16]. Белки кадгерины принимают непосредственное участие в механотрансдукции – передаче механических сигналов от клетки к клетке. Как было недавно показано, разрушение сенсорного звена в цепи сигналов механотрансдукции (то есть в конечном итоге подавление контракции) способствует регенерации [17]. Это наблюдение имеет особенно важное значение для крупных организмов, включая человека, где ткани в норме испытывают значительные механические нагрузки.

Способность к ранозаживлению значительно отличается на разных этапах индивидуального развития организма. Hess в 1954 году первым показал, что при нанесении раны плоду овцы она заживает без образования рубца [18], что характерно для настоящей, эпиморфной регенерации, к которой взрослые млекопитающие, включая человека, не способны. Было обнаружено, что у всех млекопитающих способность к регенерации зависит от стадии развития плода [19]. Переход между безрубцовым заживлением и заживлением с образованием рубцов совпадает с моментом формирования сосудов, волосяных фолликулов и полноценного внеклеточного матрикса кожи, а также формированием воспалительной реакции [20]. Это наблюдение хорошо согласуется с положением, что именно восстановление структуры стромы является ключевым фактором при заживлении.

КЛАССИФИКАЦИИ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ КОЖНЫХ РАН

На сегодняшний день на международном рынке высокотехнологичных продуктов для восстановления кожных покровов присутствует несколько десятков разнообразных материалов. Причем в силу их высокой востребованности и в результате бурного развития медицинских технологий производство этих материалов активно переходит от «ручной работы» на промышленный массовый уровень. Например, компанией CUTISS AG (Швейцария) недавно было анонсировано полностью автоматизированное получение тканеинженерного продукта DenovoSkin™ для индивидуальной терапии на основе собственных клеток кожи пациента и коллагенового геля [21]. В частности, применение DenovoSkin™ в сочетании с рядом других материалов позволило спасти 14-летнего пациента с ожогами 95% общей поверхности тела [22]. Интенсивное масштабирование производства широкого спектра замещающих кожу продуктов требует их классификации, позволяющей практикующему врачу более эффективно ориентироваться на современном рынке этих материалов.

Классификация продуктов для заместительной терапии кожи совершенствовалась параллельно с развитием этой области. Общим для всех систем классификации был фокус на соответствие материала замещаемому слою кожи: эпидермальные, дермальные или комбинированные заменители. Подобное разделение функционально соответствует стандартной классификации ожогов и других ран по глубине повреждения [10]. В основу других вариантов классификации замещающих кожу продуктов было положено распределение по группам в зависимости от типа используемого материала, наличия клеточного компонента и т. д. Таким образом, один и тот же продукт может быть отнесен к нескольким разным группам, в зависимости от выбранного для классификации параметра (табл.). Вместе с тем ключевой характеристикой для включения продукта в ту или иную группу, безусловно, является разделение на временные и постоянные заменители кожи.

К постоянным заменителям (скаффолдам) относятся материалы, которые обеспечивают восстановление части или всей структуры кожи и остаются

в раневом ложе, не удаляются даже после наложения аутологичного кожного лоскута. Назначением постоянных заменителей кожи является обеспечение матричной основы для синтеза новой здоровой дермы мигрирующими в раневое поле клетками, формирующими нормальную, а не рубцовую ткань. Исключительно эпидермальные конструкции (например, кератиноцитарные пласты) сами по себе не способны обеспечить устойчивый эффект реэпителизации раны при отсутствии жизнеспособной дермы. Поэтому на первом этапе обязательно должно быть обеспечено именно восстановление дермы.

В отличие от постоянных (скаффолдов) временные заменители кожи, как правило, не достигают полной интеграции с раневым ложем. Они должны плотно прилегать к поверхности раны, способствуя заживлению, защищая, уменьшая потерю воды и ускоряя эпителизацию. Цель временных заменителей кожи – в отсутствие эпителиального барьера обеспечить оптимальные условия для восстановления тканей: влажную среду, защиту раны от потери воды и бактериальной инвазии, снижая при этом количество и болезненность перевязок.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДИЗАЙНА СКАФФОЛДОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ КОЖНЫХ РАН

В составе большей части органов присутствуют два основных компонента: паренхима (основная функционально-активная ткань органа, обеспечивающая его специализированные функции) и строма (поддерживающая соединительно-тканная основа органа, придающая форму и обеспечивающая его механические свойства). Если говорить о коже (самом крупном органе человека), то ее паренхима – это прежде всего эпидермис и его производные, а строма – это дерма, обеспечивающая механическую прочность, кровоснабжение и иннервацию. Многолетние исследования процесса восстановления поврежденных органов и тканей человека показали, что при наличии неповрежденной стромы элементы паренхимы способны к полному восстановлению структуры и функций. Напротив, в отсутствие стромы регенерация паренхимы невозможна. Таким образом, восстановление стромы является основной задачей регенеративной терапии [23]. В коже именно взаимодействие кератиноцитов эпидермиса со стромой (дермой) опосредует адекватные миграцию и адгезию этих клеток, необходимые для заживления кожной раны.

Следует отметить исключительно важную роль ключевого компонента стромы – внеклеточного матрикса, как в процессе развития, так и при восстановлении органа. Внеклеточный матрикс – это динамичная структура из фибриллярных структурных белков, гликозаминогликанов, протеогликанов и связанных с матриксом регуляторных факторов. Внеклеточный матрикс является не только комплексным продуктом деятельности клеток, он и сам осуществляет регуляторное и направляющее воздействие на клетки, в том числе при заживлении и формировании рубца [24, 25]. Известно, что механические характеристики среды оказывают на клетку влияние ничуть не меньшее, чем молекулярные сигналы. Способности клетки к пролиферации, миграции и дифференцировке, а также малигнизация и старение напрямую

Таблица

Классификация продуктов для заместительной терапии кожи: курсивом выделены продукты, доступные в РФ, жирным шрифтом – рассматриваемые в данном обзоре [10]

Classification of skin substitute therapy products. Products available in the Russian Federation are presented in italics, and those discussed in this review are presented in bold [10]

Основное свойство	Подгруппы	Примеры продуктов
Постоянство (неудаляемость)	Временные	*Аллографты* (например, TheraSkin), *амниотическая мембрана* (например, Epifix), Biobrane, *Suprathel*, *Alloderm*, Apligraf
	Постоянные (неудаляемые)	**Biodegradable Temporising Matrix (BTM)**, **Integra**, Matriderm, **SmartMatrix**, ***Гиаматрикс (G-DERM)***
Источник материала	Биологические	*Аллографты*, *амниотическая мембрана*, *Alloderm*, Apligraf, Matriderm
	Биосинтетические	**Integra**, Biobrane, Dermagraft, *Гиаматрикс*, **SmartMatrix**
	Синтетические	**Biodegradable Temporising Matrix (BTM)**, *Suprathel*
Количество слоев	Однослойные	*Alloderm*, Matriderm, *Suprathel*, кератиноцитарные пласты – аутографт, *Гиаматрикс,* SmartMatrix
	Двуслойные	Biobrane, **Integra**, BTM, OrCel, **Biodegradable Temporising Matrix (BTM)**
Замещаемый слой	Эпидермальные	Epicel, Recell, *Suprathel*, Cultured Epithelial autograft, Biobrane
	Дермальные	*Alloderm*, Dermagraft, Matriderm, **SmartMatrix**
	Полнослойные	*Аллографты*, Apligraf, **Integra**, **BTM**
Клеточный компонент	Бесклеточные	**Integra**, **BTM**, Matriderm, Biobrane, *Suprathel*, *Гиаматрикс*, **SmartMatrix**
	С клетками	*Аллографты*, Epicel, Recell, Apligraf, Dermagraft, OrCel

связаны с жесткостью окружающего матрикса и распределением механической нагрузки [26, 27]. Все это в полной мере относится и к кожным покровам.

Для того чтобы быть эффективным, заменитель дермы должен удовлетворять ряду требований, сформулированных еще несколько десятилетий назад сотрудниками Массачусетского университета (США) Яннасом и Бурке (I.V. Yannas и J.F. Burke). Иоаннис Яннас (Ioannes Yannas) является автором серии классических работ, в которых изложены основные принципы дизайна скаффолдов для регенерации тканей, в первую очередь дермы кожи и периферических нервов [28–30]. Эти работы постулируют, что контракция раны и процесс регенерации (полное восстановление структуры и функции ткани) являются взаимоисключающими процессами. Исходя из этого, регенерация кожи у взрослых млекопитающих может быть достигнута путем контроля над контракцией [31, 32], в частности, с помощью замещающих поврежденную дерму скаффолдов с определенными свойствами.

В идеальном случае после выполнения своих функций помещенный в рану скаффолд должен подвергнуться биодеградации, чтобы не вызывать долговременные нарушения механического и химического гомеостаза ткани, которые чреваты хронизацией воспаления, формированием кальцификатов [33, 34] и даже перерождением эпителиального компонента.

Таким образом, поскольку требуется биоразлагаемый скаффолд, который в конечном итоге организм заместит новой тканью, нет необходимости создавать конструкцию, в точности имитирующую все функциональные свойства дермы. Необходима конструкция, которая возьмет на себя роль среды для формирования новой соединительной ткани. Для успешного выполнения этой задачи должен быть выполнен ряд условий.

Во-первых, жесткость материала на изгиб должна быть достаточно малой, чтобы позволить ему плотно прилегать к поверхности раневого ложа. Это позволит избежать формирования воздушных пузырей между раневым ложем и материалом. Боковое смещение материала по раневому ложу можно свести к минимуму за счет усиления адгезионной связи между соприкасающимися поверхностями. Исключительную важность адгезии при использовании заменителей кожи постулирует и глава компании PermeaDerm, Inc. (США) Aubrey Woodroof, создатель временных искусственных покрытий (высокотехнологичных повязок) Biobrane и AWBAT [35]. Во-вторых, эффективное закрытие раны также требует обеспечения оттока жидкости через материал. В-третьих, срок службы (время биодеградации) конструкции должен быть сопоставим со временем нормального заживления (для резаной раны кожи он составляет 3–4 недели) [36]. Кроме того, регенеративно активные каркасы должны соответствовать четко определенным требованиям к структуре: пористость должна превышать 95%, структура пор – открытая с очень большим значением удельной поверхности (отношение общей поверхности пор каркаса в мм^2 к объему каркаса в мм^3). Для поддержания способствующей регенерации клеточной активности средний диаметр пор искусственного матрикса должен быть в диапазоне 20–125 мкм (рис. 2, б). Скаффолды, поры которых намного меньше 20 мкм, не позволяют клеткам проникать внутрь (рис. 2, а). При размерах более 125 мкм доступная поверхность пор материала будет недостаточной для прямого контакта со всеми мигрирующими клетками. При чрезмерном размере пор материал больше способствует взаимодействию «клетка–клетка», а не «клетка–матрикс» (рис. 2, в), и соответственно, формированию клеточных кластеров из ориентированных миофибробластов [23].

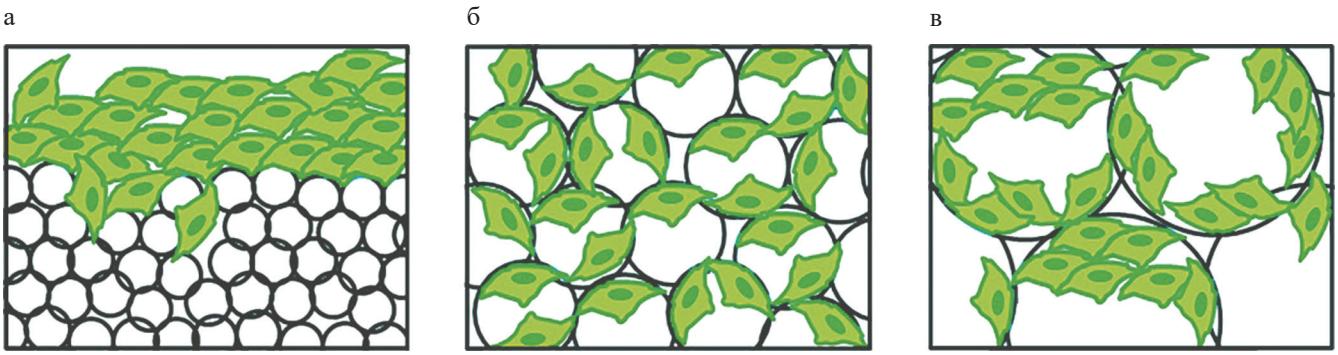


Рис. 2. Влияние размера пор на регенеративную активность скаффолда: а – поры слишком малы для проникновения фибробластов внутрь материала; б – оптимальный размер пор позволяет каждой клетке контактировать с материалом; в – слишком большие поры способствуют формированию кластеров миофибробластов

Fig. 2. Effect of pore size on the regenerative activity of the scaffold: a – pores are too small for fibroblasts to penetrate the material; б – optimal pore size allows effective cell–material interaction; в – excessively large pores promote the formation of myofibroblast clusters

Миграция фибробластов в область повреждения и трансформация их в сократительные миофибробласты при заживлении является генератором контракции. При нормальном течении этого процесса контракция обеспечивает быстрое уменьшение площади поверхности раны и способствует ее закрытию и восстановлению барьера [12]. После выполнения своей задачи миофибробласты исчезают из раны посредством апоптоза [13]. Если этот процесс нарушен, избыточная активность миофибробластов приводит к формированию грубых рубцов и контрактур.

Опираясь на опыт многолетней экспериментальной работы и многочисленные клинические наблюдения, I.V. Yannas и J.F. Burke разработали и запатентовали первый коммерческий «искусственный заместитель кожи» Integra.

INTEGRA DERMAL REGENERATION TEMPLATE

Integra Dermal Regeneration Template (Integra DRT, Life Sciences Corp., New Jersey, США) – первый одобренный Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) США в 1996 году заместитель кожи для лечения ожогов третьей степени и рубцовых контрактур. Integra DRT – двуслойный скаффолд из очищенного коллагена бычьих сухожилий, сшитого с хондроитин-6-сульфатом – гликозаминогликаном из акульего хряща [37]. Материалы для тканевой инженерии на основе природных полимеров животного происхождения обладают неоспоримыми преимуществами, обеспечивая для клеток среду, приближенную к естественной: предоставляют детерминанты для адгезии и миграции клеток, участвуют в молекулярном сигналинге. Эти полимеры представлены фибриллярными белками и их производными (коллаген, желатин, эластин, фибрин), а также гликозаминогликанами (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат). Причем фибриллярные белки служат формообразующим компонентом скаффолда, а гликозаминогликаны обеспечивают удержание воды и депонирование активных факторов, модулируют иммунный ответ. Высокомолекулярные гликозаминогликаны обладают также и противовоспалительным действием [38].

Integra DRT представляет собой трехмерную белковую сеть (губку) с оптимизированным размером пор в диапазоне 20–125 мкм и высокой плотностью белковых лигандов для клеточных рецепторов адгезии интегринов α1β1 и α2β1 (расстояние между лигандами менее 200 мкм). Время деградации Integra в ране около 30 дней. Integra может поставляться со съемным силиконовым слоем, который действует как временный аналог эпидермиса. Срок годности Integra DRT составляет 2 года. Кожа, восстановленная с применением Integra, демонстрировала значительное улучшение подвижности, мягкости, чувствительности и внешнего вида, по оценке пациентов через 2 года после операции. Гистологический анализ восстановленной кожи во всех образцах выявил коллагеновые и эластиновые волокна, хотя и в аномальном расположении. Нервные волокна были идентифицированы во всех образцах в ретикулярном слое дермы. Придатки кожи не восстанавливались, остатков материала не было обнаружено ни в одном из случаев [39]. Integra DRT продемонстрировала отличные результаты по приживаемости при лечении обширных инфицированных ожоговых ран [40]. Наряду с очевидными достоинствами у этого материала есть и недостатки, которые свойственны и другим материалам на основе коллагена – это, в первую очередь, высокая стоимость, а также невысокая устойчивость к инфицированию.

Integra DRT является наиболее известным и широко используемым материалом для замещения кожи при лечении ран и ожогов и нередко служит в качестве эталона (референсного стандарта) как для применяемых в клинике материалов, так и при разработке новых скаффолдов на основе натуральных и синтетических компонентов, например таких материалов, как Pelnac [41], Nevelia [42] и Matriderm [43]. Поиски возможностей дальнейшей оптимизации технологии Integra DRT, так же, как и поиск альтернативных решений, продолжаются исследователями разных стран. Например, был предложен нетканый пористый (диаметр пор 20–198 мкм) пуллулан-желатиновый скаффолд, который через 20 дней после операции продемонстрировал по сравнению с Integra DRT более быструю биодеградацию, увеличенное количество грануляционной ткани и усиленное отложение волокон коллагена [44]. Другой скаффолд – DermiSphere™ – был изготовлен полностью из коллагена I типа путем внедрения более плотных микросфер (1% ателоколлаген) в менее плотный гидрогель (0,3% телоколлаген) [45, 46]. В экспериментах *in vivo* этот материал продемонстрировал более быструю (в течение 7 дней) васкуляризацию, и как следствие, лучшую приживаемость расщепленного лоскута по сравнению с Integra DRT. Снижение сроков заживления, по мнению авторов, позволяет снизить инфицирование и в конечном счете перейти от двухстадийного хирургического лечения ран и ожогов к одностадийному: одновременному наложению заместителя дермы и расщепленного лоскута. В исследованиях *in vivo* было также показано, что предварительный засев Integra фрагментами микроваскулярного русла, полученными из жировой ткани (ad-MVF), заметно улучшает васкуляризацию, лимфангиогенез и интеграцию дермального матрикса в течение первых 14 дней после имплантации [47].

ГИАМАТРИКС

Среди отечественных разработок наиболее широкое применение получил материал на основе фотохимически наноструктурированной гиалуроновой кислоты – биопластический материал «Гиаматрикс» (или гистоэквивалент-биопластический материал G-DERM) [48]. Будучи основным полисахаридным компонентом внеклеточного матрикса, гиалуроновая кислота играет важную роль в организации тканевой архитектуры и регуляции клеточных функций [49].

Применение технологии фотохимического структурирования, основанной на фотохимической полимеризации растворов гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса, позволяет получить биопластический материал в виде пленки толщиной 65–350 мкм. В лиофилизированном состоянии материал легко моделируется под форму и размер раневого дефекта, в условиях влажной среды гидратируется и адгезирует к подлежащей поверхности, сохраняя при этом морфоструктурную стабильность [50]. Благодаря эластичности и прекрасным адгезивным свойствам «Гиаматрикс» строго повторяет микрорельеф поверхности, на которую укладывается. Положительным отличием данного биоматериала является практически полное отсутствие в нем коллагена и других белковых примесей, что обеспечивает высокий уровень биологической безопасности и низкую антигенность. Готовый материал хранится в лиофилизированном состоянии при температуре +4 °С в течение 36 месяцев. Этот не имеющий аналогов материал, с одной стороны, эффективно работает как повязка, создавая условия для заживления раны, с другой – проявляет свойства скаффолда.

«Гиаматрикс» применяется не только для восстановления кожных покровов, включая лечение вялогранулирующих ран и трофических язв [8, 51, 52], но и для восстановления барабанной перепонки при плановых слухоулучшающих реконструктивных операциях и при оказании экстренной микрохирургической помощи больным с разрывом барабанной перепонки [53]. Однако на сегодняшний день наиболее широко материал «Гиаматрикс» применяется в косметологии, на его основе выпускается целый спектр соответствующих продуктов [54].

SMART MATRIX

Новый бесклеточный готовый к применению заместитель дермы Smart Matrix® (компания Smart Matrix Limited – SML, Великобритания) представляет собой фибрин-альгинатную губку, химически стабилизированную EDC/NHS (N-этил-N’-[3-диметиламинопропил]карбодиимид/N-гидроксисукцинимид). Фибрин наряду с коллагеном находится в фокусе внимания биомедицины не один десяток лет. На сегодняшний день он подробно изучен и широко используется как в медицине (хирургический клей, стоматология и др.), так и в новых экспериментальных биоинженерных разработках [55].

Биологическая функция фибрина связана с контролем гемостаза. Он играет ключевую роль в образовании кровяных сгустков. Волокна фибрина формируют сеть, которая не только останавливает кровотечение, но и служит основой для заживления раны, обеспечивая барьер для защиты от инфекции и поддерживая регенерацию тканей. Поэтому в регенеративной медицине так эффективны искусственные скаффолды на основе фибрина, являющегося естественным субстратом для миграции клеток разных типов, включая клетки-предшественники сосудов. На ранних стадиях ранозаживления фибрин действует как временный матрикс, поддерживающий мигрирующие лейкоциты и действующий как резервуар для факторов роста. На последующих стадиях фибриновая сеть поддерживает реэпителизацию, ангиогенез и формирование волокон межклеточного матрикса, выступая фактически в качестве естественного скаффолда. Без формирования фибринового провизорного матрикса процесс заживления нарушается, останавливаясь на стадии воспаления. Также фибрин посредством различных механизмов защищает организм от бактериальной инфекции, обеспечивая физический барьер, захват бактерий в фибриновую сеть и направляя активность иммунных клеток [56, 57]. Фибрин противостоит инфекции значительно лучше, чем коллаген. Мембраны из обогащенного тромбоцитами фибрина продемонстрировали более высокие барьерные свойства по отношению к *S. aureus* и лучшую способность стимулировать заживление ран по сравнению с двумя коммерчески доступными коллагеновыми мембранами [58]. Важно отметить, что не только присутствие фибрина в ходе закрытия раны, но и его своевременное удаление из раны на финальных этапах этого процесса необходимо для успешного заживления.

Природные волокна фибрина обладают уникальными свойствами. Комбинированная атомно-силовая флуоресцентная микроскопия показала, что отдельные волокна фибрина демонстрируют исключительную эластичность и могут быть растянуты на ~330% без разрыва, подобно тому, что наблюдается в паутине. Эти показатели являются самыми высокими среди всех белковых волокон. После разрыва фибринового волокна его части сокращаются почти до своей первоначальной длины [59].

Основным компонентом Smart Matrix® является человеческий фибрин. Для получения Smart Matrix исходные компоненты (фибриноген, тромбин, хлорид кальция и альгинат) перемешиваются на высокой скорости, и полученная вспененная масса заливается в форму для полимеризации [60]. Формирующийся

скаффолд имеет средний размер пор около 200 мкм (от 50 до 400) и пористость более 90% [61]. Полученный таким образом материал покрывается затем силиконовой мембраной [60, 62].

Данные доклинических и ранних клинических исследований показывают, что Smart Matrix® стимулирует заживление ран даже без использования дополнительной пересадки расщепленного лоскута [63]. Регенераторный потенциал Smart Matrix® оценивался *in vivo* на полнослойных ранах свиней и сравнивался по эффективности с рядом стандартных методов лечения: с пересадкой аутологичного расщепленного кожного лоскута без скаффолда и с использованием двух других дермальных скаффолдов – Matriderm и Integra [61]. В этом исследовании Matriderm и Integra использовались совместно с пересадкой аутологичного расщепленного кожного лоскута в соответствии с инструкциями производителей. Smart Matrix, напротив, тестировался без использования кожного трансплантата. Согласно гистологической оценке, Smart Matrix® начал разрушаться к 10-му дню и полностью резорбировался между 20-м и 30-м днем. Это медленнее, чем наблюдалось для скаффолда Matriderm, но быстрее, чем при применении Integra. В отличие от медленно деградирующей Integra как Matriderm, так и Smart Matrix вызвали появление гигантских многоядерных клеток инородных тел. Также Smart Matrix был очень эффективен с точки зрения реваскуляризации вновь формирующейся ткани [61].

Помимо Smart Matrix существуют и другие разработки на основе фибрина. Zhou et al. показали, что высокопористый материал из смеси фибрина и поливинилового спирта, полученный методом синтеза по эмульсионным матрицам (emulsion templating), ускоряет заживление, обладает проангиогенными свойствами и отличной биосовместимостью [64].

Также разработаны продукты на основе фибрина с культивированными клетками – например MyDerm® Skin Substitute (Малайзия), представляющий собой двуслойный фибриновый гель [65], или UGRSKIN (Испания) – фибрин-агарозный гель [66], оба содержащие аутологичные клетки пациента.

СИНТЕТИЧЕСКИЙ БИОРАЗЛАГАЕМЫЙ ПРОВИЗОРНЫЙ МАТРИКС NOVOSORB® BTM

Хотя синтетические материалы не могут сравниться с натуральными по способности имитировать естественную микросреду для эффективного поддержания клеточной активности, они дешевле, обладают лучшей механикой и исключают возможность передачи инфекций. Кроме того, использование синтетических материалов не создает этических проблем.

Биоразлагаемый провизорный матрикс NovoSorb (Biodegradable Temporising Matrix – BTM, компания PolyNovo Ltd, Порт-Мельбурн, Виктория, Австралия) представляет собой полностью синтетический дермальный скаффолд – губку с открытыми порами – из биоразлагаемого пенополиуретана (срок биоразложения 12–18 месяцев), с временным небиоразлагаемым полиуретановым покрытием с отверстиями для отвода жидкости. Этот полностью синтетический материал, не содержащий продуктов животного происхождения, весьма удобен в применении, относительно дешев и может производиться в больших объемах [9]. Его легко транспортировать и хранить, можно использовать в полевых условиях. Материал успешно противостоит контракции, хорошо прилегает к ране, не подвержен преждевременной отслойке верхнего «эпидермального» слоя. Сравнительные исследования NovoSorb BTM и IntegraDRT на мышах показали, что через две недели NovoSorb BTM демонстрирует более развитую сосудистую сеть, хотя при этом наблюдалась и более выраженная воспалительная реакция [67]. Однослойный (без покрытия) NovoSorb® BTM был впервые использован в клинике в 2014 году для лечения пролежней параллельно с использованием метода терапии отрицательным давлением (negative pressure wound therapy) [68]. Впоследствии, после доработки (добавления верхнего небиоразлагаемого слоя), область применения этого продукта была значительно расширена. В частности, было показано, что BTM безопасен и дает хорошие результаты в долгосрочной перспективе (наблюдения более 4 лет) при лечении сложных ран: обширных ожогов, диабетических язв, при некротизирующем фасциите [69–71], для восстановления кожного покрова после резекции опухолей, при остеомиелите, в хирургии кисти [72]. При этом лечение ран проводилось в 2 этапа: закрытие раны NovoSorb BTM и последующее наложение аутологичного расщепленного лоскута. За годы использования NovoSorb BTM в клинической практике был сделан ряд важных наблюдений. Во-первых, BTM может успешно использоваться на инфицированных ранах в комбинации с антибиотикотерапией. Во-вторых, он может давать положительный эффект даже при наложении на оголенную кость. В-третьих, NovoSorb BTM успешно приживается на ранах, подвергающихся постоянному давлению [72]. Кроме того, NovoSorb BTM гораздо доступнее по сравнению с другими материалами – он почти в четыре раза дешевле, чем Integra ($8.50/см^2 в сравнении с $31.50/см^2) [73]. Было показано, что NovoSorb® BTM деградирует в раневом поле в течение 6 месяцев [74, 75]. Таким образом, недорогой однокомпонентный и полностью синтетический скаффолд оказался удобным, доступным и практически универсальным продуктом для восста-

новления соединительной ткани – не только дермы кожи, но и фасций.

МАТЕРИАЛЫ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ЭЛАСТИНА

Особого внимания при решении проблемы ранозаживления заслуживают вопросы восстановления эластичности кожи, что непосредственно связано с качеством послеоперационной жизни пациентов. Несмотря на то что в коже эластин составляет всего 2–3% сухого веса ткани [76], он играет существенную роль в обеспечении ее эластичности и упругости, а также устойчивости к механической «усталости» тканей, которые постоянно подвергаются деформации (сосуды, легкие, кожа, ткани опорно-двигательного аппарата). В коже дермальные фибробласты являются основным продуцентом тропоэластина – растворимого предшественника эластина. Гладкомышечные и эндотелиальные клетки также способны его синтезировать. Эластин кодируется геном *ELN* [77] и синтезируется в виде мономера тропоэластина массой 60–70 кДа. Сеть зрелых волокон эластина собирается *in situ.* Это иерархически организованный многоступенчатый процесс, называемый эластогенезисом. После секреции продуцирующими клетками тропоэластина в межклеточный матрикс молекула эластина подвергается сборке и последующей сшивке на каркасе из микрофибрилл с образованием нерастворимого конечного продукта – эластина [78]. Формирование эластиновой сети кожи происходит в перинатальный период и замедляется до минимума уже в раннем детстве [76]. Период полураспада эластина составляет 74 года, это наиболее стабильный из известных белков [79]. У взрослых людей восстановление эластинового каркаса после повреждения тканей затруднено, это одна из причин, почему проблемы пациентов с обширными рубцами так тяжело поддаются коррекции. При развитии рубца формируется фиброзная ткань, состоящая главным образом из плотно упакованных параллельных волокон коллагена I типа и по своим механическим свойствам значительно отличающаяся от нормальной [80, 81]. Рубцовая ткань обладает большей жесткостью при меньшей гибкости и прочности и гораздо меньшей эластичности.

Эластиновые волокна есть в составе натуральных децеллюляризованных скаффолдов. Например, Matriderm (MedSkin Solutions AG, Германия) – трехмерный коллаген-эластиновый скаффолд, получаемый из децеллюляризованной дермы крупного рогатого скота с добавлением гидролизата эластина, скаффолд ничем не стабилизирован [82]. Matriderm демонстрирует высокую эффективность при лечении глубоких и сложных ран. Тем не менее коммерческое получение искусственных скаффолдов с волокнами эластина на сегодня остается нерешенной задачей, поскольку воспроизвести *in vitro* сложный многоступенчатый процесс сборки сети полноценных зрелых молекул эластина в необходимом количестве достаточно проблематично, также как и эффективно выделить его из тканей. Для успешного функционирования эластиновая сеть должна быть «встроена» в межклеточный матрикс.

Группа исследователей во главе с Энтони Вайсом (A. Weiss, университет Сиднея, Австралия) предложила добавлять рекомбинантный тропоэластин в материалы для регенерации. Положительный эффект – синтез и созревание волокон эластина – был подтвержден *in vitro*. Этот эффект наблюдался как в стандартной 2D-культуре фибробластов на предметных стеклах [83], так и на матриксах из фибрина, коллагена и гликозаминогликанов, засеянных гладкомышечными клетками сосудистой стенки [84].

Даже без формирования полноценной сети зрелых волокон добавление тропоэластина способствует заживлению. По данным Duo-Mei Tian et al. (университет Сунь Ятсена, Шэньчжэнь, Китай), эластин в составе гидрогелей проявляет выраженные противовоспалительные и проангиогенные свойства [85]. Было показано, что включение тропоэластина в состав нетканого материала из себацината полиглицерина (polyglycerol sebacate) способствовало заживлению полнослойных кожных ран у мышей за счет купирования воспалительной реакции, как местной, так и системной. Добавление тропоэластина также способствует повышению уровня противовоспалительного цитокина IL-10 в плазме крови, увеличению количества противовоспалительных M2-макрофагов и CD4+ Т-клеток в ране, а также увеличению количества регуляторных Foxp3+ Т-клеток в раневом ложе [86]. Авторы полагают, что именно противовоспалительные свойства материала с тропоэластином способствуют качественному восстановлению морфологии дермы, не уступая в этом отношении Integra DRT.

Разработка эффективного метода восстановления эластинового каркаса станет прорывом в современной тканевой инженерии. В настоящее время производство тропоэластина и пептидов – дериватов эластина для медицинских целей осуществляет компания Elastagen (A. Weiss, Австралия).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОИЗВОДСТВА И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИСКУССТВЕННЫХ АНАЛОГОВ ДЕРМЫ

Несмотря на заметные успехи в области регенеративной терапии кожи (раны, ожоги, хронические язвы), на сегодняшний день и для ученых, и для индустрии нерешенным остается целый ряд задач, включая разработку новых эффективных и недорогих

материалов, а также совершенствование уже существующих заменителей кожи и оценку долговременных результатов их применения. Идеальный продукт должен сочетать в себе целый набор специфических характеристик [10, 87, 88]. В частности, быть доступным по цене, не требовать специальных условий хранения, обладать большим сроком годности, низкой (а лучше нулевой) антигенностью, хорошей гибкостью и эластичностью, а также плотно прилегать к ране, сохраняя при этом механическую прочность. Он также должен быть удобен при использовании в рутинной хирургической практике, должен сохранять влагу и препятствовать инфекции, предотвращать образование грубых рубцов и контрактур.

Эти требования определяют ряд перспективных направлений дальнейших разработок, связанных с нерешенными до сих пор задачами, среди которых основными являются следующие:

1) восстановление базальной мембраны и дермально-эпидермального контакта;
2) восстановление эластинового каркаса дермы;
3) оптимизация сроков биоразложения материала в соответствии с конкретной клинической задачей;
4) стимуляция васкуляризации искусственных аналогов дермы;
5) использование альтернативных источников коллагена (рыбий, растительный, рекомбинантный и т. д.).

Хорошо зарекомендовавшие себя базовые материалы, полученные с учетом перечисленных выше принципов, могут быть в дальнейшем модифицированы, став более «нацеленными» на конкретную терапевтическую задачу, например, за счет высвобождения различных биоактивных факторов и противомикробных препаратов [89, 90].

Интенсивные исследования в этих направлениях ведутся как в России, так и за рубежом. При этом предлагаются не только принципиально новые материалы, но и методологии усовершенствования структуры и свойств продуктов, разработанных ранее. Недавно М.Н. Егорихина и соавт. предложили биоразлагаемый скаффолд на основе коллагена кожи трески с «искусственными нишами» для стволовых клеток [91]. А.А. Кондратенко и соавт. оценили бактериостатические свойства бесклеточных скаффолдов и гидрогелей, приготовленных с использованием различных протоколов децеллюляризации пуповины человека. Значительный бактериостатический эффект гидрогелей в отношении *E. coli* был выявлен в течение первых 16 часов инкубации, показана эффективность этого продукта в качестве дополнительной терапии при аутотрансплантации кожи [92]. В новом исследовании B. Blackstone et al. показано, что имитация рельефа сосочков дермы у дермального коллагенового скаффолда обеспечивает более качественное восстановление эпидермиса кожи и сокращает сроки заживления полнослойной раны [93].

Хотя многие тканеинженерные продукты для восстановления кожи все еще остаются на стадии доклинических испытаний, продолжение активных исследований в этой области, безусловно, позволит добиться успеха (создания оптимального заменителя кожи), и со временем тканевая инженерия превратится из экспериментальной дисциплины в надежный клинический инструмент.

Работа поддержана грантом Курчатовского института «Фундаментальные междисциплинарные исследования в области создания природоподобных технологий» по подтеме 1Ф 2.1.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Алексеев АА, Малютина НБ, Кожемякина ВВ*. Совершенствование технологии местного лечения пациентов с глубокими ожогами. *Высокотехнологическая медицина*. 2020; 7 (3): 18–28. *Alekseev AA, Malyutina NB, Kozhemyakina VV*. Impoving the Technology of Local Treatment in Patients with Deep Burns. *Vysokotehnologicheskaja medicina*. 2020; 7 (3): 18–28.
2. *Бесчастнов ВВ, Павленко ИВ, Багрянцев МВ, Кичин ВВ, Перетягин ПВ, Орищенко АВ и др*. Современные подходы к техническим аспектам свободной аутодермопластики. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2018; 11 (1): 59–69. *Beschastnov VV, Pavlenko IV, Bagryantsev MV, Kichin VV, Peretyagin PV, Orishchenko AV et al*. Modern Approaches to the Technical Aspects of Split-skin Grafting. Journal of experimental and clinical surgery. 2018; 11 (1): 59–69. doi: 10.18499/2070-478X-2018-11-1-59-69.
3. *Braza ME, Marietta M, Fahrenkopf MP*. Split-Thickness Skin Grafts. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. PMID: 31855388. [updated Feb 14, 2025]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551561/.
4. *Phelan HA, Bemal E*. Treatment of deep burn injury. UpToDate.com [Internet] [updated Mar 12, 2024]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-deep-burn-injury/print.
5. *Glat PM, Davenport T*. Current Techniques for Burn Reconstruction: Using Dehydrated Human Amnion/Chorion Membrane Allografts as an Adjunctive Treatment Along the Reconstructive Ladder. *Ann Plast Surg*. 2017; 78 (2 Suppl 1): S14–S18. doi: 10.1097/SAP.0000000000000980.
6. *Dai C, Shih S, Khachemoune A*. Skin substitutes for acute and chronic wound healing: an updated review. *J Dermatolog Treat*. 2020; 31 (6): 639–648. doi: 10.1080/09546634.2018.1530443.

7. *Widjaja W, Tan J, Maitz PKM*. Efficacy of dermal substitute on deep dermal to full thickness burn injury: a systematic review. *ANZ J Surg*. 2017; 87 (6): 446–452. doi: 10.1111/ans.13920.
8. *Рахматуллин Р, Адельшина Л, Бурлуцкая О, Гильмутдинов Р, Гильмутдинова И*. Биоматериал «Гиаматрикс» в арсенале современных методов лечения ожогов. *Врач*. М.: Русский врач. 2011; 12: 44–46. *Rahmatullin R, Adel'shina L, Burluckaja O, Gil'mutdinov R, Gil'mutdinova I*. Use of Biomaterial «Hyamatrix»® in the Arsenal of Current treatments for Burns. *Vrach*. M.: Russkij vrach. 2011; 12: 44–46.
9. *Greenwood JE*. Hybrid Biomaterials for Skin Tissue Engineering. 2016. In book: 'Skin Tissue Engineering and Regenerative Medicine' Chapter: 9. Publisher: Academic Press (Elsevier Inc.), London, UK Editors: Albanna MZ & Holmes JH IV pp 185–210. doi: 10.1016/B978-0-12-801654-1.00010-3.
10. *Concannon E, Damkat-Thomas L, Coghlan P, Greenwood JE*. Role of Skin Substitutes in Burn Wound Reconstruction [Internet]. Wound Healing – Recent Advances and Future Opportunities. IntechOpen; 2023. Available from: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.105179. doi: 10.5772/intechopen.105179.
11. *Муромцева ЕВ, Сергацкий КИ, Никольский ВИ, Шабров АВ, Альджабр М, Захаров АД*. Лечение ран в зависимости от фазы раневого процесса. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2022; 3: 93–109. *Muromceva EV, Sergackij KI, Nikol'skij VI, Shabrov AV, Al'dzhabr M, Zaharov AD*. Lechenie ran v zavisimosti ot fazy ranevogo processa. *Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Povolzhskij region. Medicinskie nauki*. 2022; 3: 93–109. doi: 10.21685/2072-3032-2022-3-9.
12. *Reinke JM, Sorg H*. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012; 49 (1): 35–43. doi: 10.1159/000339613.
13. *Schuster R, Younesi F, Ezzo M, Hinz B*. The Role of Myofibroblasts in Physiological and Pathological Tissue Repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2023; 15 (1): a041231. doi: 10.1101/cshperspect.a041231.
14. *Yannas IV*. Similarities and differences between induced organ regeneration in adults and early foetal regeneration. *J R Soc Interface*. 2005; 2 (5): 403–417. doi: 10.1098/rsif.2005.0062.
15. *Jiang D, Christ S, Correa-Gallegos D, Ramesh P, Kalgudde Gopal S, Wannemacher J et al*. Injury triggers fascia fibroblast collective cell migration to drive scar formation through N-cadherin. *Nat Commun*. 2020; 11 (1): 5653. doi: 10.1038/s41467-020-19425-1.
16. *Blaschuk OW*. Potential Therapeutic Applications of N-Cadherin Antagonists and Agonists. *Front Cell Dev Biol*. 2022; 10: 866200. doi: 10.3389/fcell.2022.866200.
17. *Chen K, Kwon SH, Henn D, Kuehlmann BA, Tevlin R, Bonham CA et al*. Disrupting biological sensors of force promotes tissue regeneration in large organisms. *Nat Commun*. 2021; 12 (1): 5256. doi: 10.1038/s41467-021-25410-z.
18. *Hess A*. Reactions of mammalian fetal tissues to injury II. Skin. *Anat Rec*. 1954; 19 (4): 435–447. doi: 10.1002/ar.1091190404.
19. *Colwell AS, Longaker MT, Lorenz HP*. Mammalian fetal organ regeneration. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2005; 93: 83–100. doi: 10.1007/b99972.
20. *Lee YS, Wysocki A, Warburton D, Tuan TL*. Wound healing in development. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2012; 96 (3): 213–222. doi: 10.1002/bdrc.21017.
21. Startupticker.ch [Internet]. CUTISS attracts CHF 25 million and enters Phase 3 clinical trials [updated 21.05.2024]. Available from: https://www.startupticker.ch/en/news/cutiss-attracts-chf-25-million-and-enters-phase-3-clinical-trials.
22. *Schiestl C, Meuli M, Vojvodic M, Pontiggia L, Neuhaus D, Brotschi B et al*. Expanding into the future: Combining a novel dermal template with distinct variants of autologous cultured skin substitutes in massive burns. *Burns*. 2021; 5 (3): 145–153. doi: 10.1016/j.burnso.2021.06.002.
23. *Yannas IV*. Emerging rules for inducing organ regeneration. *Biomaterials*. 2013; 34 (2): 321–330. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.006.
24. *Yates CC, Bodnar R, Wells A*. Matrix control of scarring. *Cell Mol Life Sci*. 2011; 68 (11): 1871–1881. doi: 10.1007/s00018-011-0663-0.
25. *Wells A, Nuschke A, Yates CC*. Skin tissue repair: Matrix microenvironmental influences. *Matrix Biol*. 2016; 49: 25–36. doi: 10.1016/j.matbio.2015.08.001.
26. *Saraswathibhatla A, Indana D, Chaudhuri O*. Cell-extracellular matrix mechanotransduction in 3D. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2023; 24 (7): 495–516. doi: 10.1038/s41580-023-00583-1.
27. *Bansaccal N, Vieugue P, Sarate R, Song Y, Minguijon E, Miroshnikova YA et al*. The extracellular matrix dictates regional competence for tumour initiation. *Nature*. 2023; 623 (7988): 828–835. doi: 10.1038/s41586-023-06740-y.
28. *Yannas IV, Burke JF*. Design of an artificial skin. I. Basic design principles. *J Biomed Mater Res*. 1980; 14 (1): 65–81. doi: 10.1002/jbm.820140108.
29. *Yannas IV, Burke JF, Gordon PL, Huang C, Rubenstein RH*. Design of an artificial skin. II. Control of chemical composition. *J Biomed Mater Res*. 1980; 14 (2): 107–132. doi: 10.1002/jbm.820140203.
30. *Dagalakis N, Flink J, Stasikelis P, Burke JF, Yannas IV*. Design of an artificial skin. Part III. Control of pore structure. *J Biomed Mater Res*. 1980; 14 (4): 511–528. doi: 10.1002/jbm.820140417.
31. *Yannas IV, Tzeranis DS, So PTC*. Regeneration of injured skin and peripheral nerves requires control of wound contraction, not scar formation. *Wound Repair Regen*. 2017; 25 (2): 177–191. doi: 10.1111/wrr.12516.
32. *Yannas IV, Tzeranis DS*. Mammals fail to regenerate organs when wound contraction drives scar formation. *NPJ Regen Med*. 2021; 6 (1): 39. doi: 10.1038/s41536-021-00149-9.
33. *Mosier J, Nguyen N, Parker K, Simpson CL*. Calcification of Biomaterials and Diseased States [Internet].

Biomaterials – Physics and Chemistry – New Edition. InTech. 2018. Available at: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.71594. doi: 10.5772/intechopen.71594.

34. *Tenchurin TK, Sytina EV, Solovieva EV, Shepelev AD, Mamagulashvili VG, Krasheninnikov SV et al*. Effect of collagen denaturation degree on mechanical properties and biological activity of nanofibrous scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 2024; 112 (2): 144–154. doi: 10.1002/jbm.a.37598.
35. *Woodroof EA*. The search for an ideal temporary skin substitute: AWBAT. *Eplasty*. 2009; 9: e10. PMID: 19279675.
36. *Yannas IV, Lee E, Orgill DP, Skrabut EM, Murphy GF*. Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86 (3): 933–937. doi: 10.1073/pnas.86.3.933.
37. *Taupin P, Gandhi A, Saini S*. Integra® Dermal Regeneration Template: From Design to Clinical Use. *Cureus*. 2023; 15 (5): e38608. doi: 10.7759/cureus.38608.
38. *Reijmers RM, Troeberg L, Lord MS, Petrey AC*. Editorial: Proteoglycans and Glycosaminoglycan Modification in Immune Regulation and Inflammation. *Front Immunol*. 2020; 11: 595867. doi: 10.3389/fimmu.2020.595867.
39. *Moiemen N, Yarrow J, Hodgson E, Constantinides J, Chipp E, Oakley H et al*. Long-term clinical and histological analysis of Integra dermal regeneration template. *Plast Reconstr Surg*. 2011; 127 (3): 1149–1154. doi: 10.1097/PRS.0b013e31820436e3.
40. *Muangman P, Deubner H, Honari S, Heimbach DM, Engrav LH, Klein MB et al*. Correlation of clinical outcome of integra application with microbiologic and pathological biopsies. *J Trauma*. 2006; 61 (5): 1212–1217. doi: 10.1097/01.ta.0000195982.71400.84.
41. *De Francesco F, Busato A, Mannucci S, Zingaretti N, Cottone G, Amendola F et al*. Artificial dermal substitutes for tissue regeneration: comparison of the clinical outcomes and histological findings of two templates. *J Int Med Res*. 2020; 48 (8): 300060520945508. doi: 10.1177/0300060520945508.
42. *De Angelis B, Orlandi F, Fernandes Lopes Morais D'Autilio M, Scioli MG, Orlandi A, Cervelli V et al*. Long-term follow-up comparison of two different bilayer dermal substitutes in tissue regeneration: Clinical outcomes and histological findings. *Int Wound J*. 2018; 15 (5): 695–706. doi: 10.1111/iwj.12912.
43. *Phillips GSA, Nizamoglu M, Wakure A, Barnes D, El-Muttardi N, Dziewulski P*. The Use Of Dermal Regeneration Templates For Primary Burns Surgery In A UK Regional Burns Centre. *Ann Burns Fire Disasters*. 2020; 33 (3): 245–252.
44. *Cheng N, Jeschke MG, Sheikholeslam M, Datu AK, Oh HH, Amini-Nik S*. Promotion of dermal regeneration using pullulan/gelatin porous skin substitute. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019; 13 (11): 1965–1977. doi: 10.1002/term.2946.
45. *Weisel A, Cohen R, Spector JA, Sapir-Lekhovitser Y*. Accelerated vascularization of a novel collagen hydrogel dermal template. *J Tissue Eng Regen Med*. 2022; 16 (12): 1173–1183. doi: 10.1002/term.3356.
46. *Luong D, Weisel A, Cohen R, Spector JA, Sapir-Lekhovitser Y*. Successful reconstruction of full-thickness skin defects in a swine model using simultaneous split-thickness skin grafting and composite collagen microstructured dermal scaffolds. *Wound Repair Regen*. 2023; 31 (5): 576–585. doi: 10.1111/wrr.13102.
47. *Frueh FS, Später T, Lindenblatt N, Calcagni M, Giovanoli P, Scheuer C et al*. Adipose Tissue-Derived Microvascular Fragments Improve Vascularization, Lymphangiogenesis, and Integration of Dermal Skin Substitutes. *J Invest Dermatol*. 2017; 137 (1): 217–227. doi: 10.1016/j.jid.2016.08.010.
48. *Рахматуллин РР, Забиров РА, Акимов АВ, Гарифзянова СМ*. Разработка наноструктурированного биопластического материала «Гиаматрикс» для ото- и ринохирургии. *Российская оториноларингология*. 2011; 4: 128–131. *Rahmatullin RR, Zabirov RA, Akimov AV, Garifzjanova SM*. Razrabotka nanostrukturirovannogo bioplasticheskogo materiala «Giamatriks» dlja oto- i rinohirurgii. *Rossijskaja otorinolaringologija*. 2011; 4: 128–131.
49. *Kobayashi T, Chanmee T, Itano N*. Hyaluronan: Metabolism and Function. *Biomolecules*. 2020; 10 (11): 1525. doi: 10.3390/biom10111525.
50. *Зиновьев ЕВ, Рахматуллин РР, Османов КФ, Алмазов ИА, Сулица АА*. Биопластические дерматотерапевтические системы на основе гидроколлоида гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2014; 1 (45): 147–151. *Zinov'ev EV, Rahmatullin RR, Osmanov KF, Almazov IA, Sulica AA*. Bioplasticheskie dermatoterapevticheskie sistemy na osnove gidrokolloida gialuronovoj kisloty i peptidnogo kompleksa. *Vestnik Rossijskoj voenno-medicinskoj akademii*. 2014; 1 (45): 147–151.
51. *Стеценко БГ, Дивеев ВА, Сиряков МВ, Иванов ГГ, Королева КП*. Опыт применения гистоэквивалент-биопластического материала гиалуроновой кислоты в хирургии. Раны и раневые инфекции. *Журнал им. проф. Б.М. Костюченка*. 2017; 4 (3): 30–35. *Stecenko BG, Diveev VA, Sirjakov MV, Ivanov GG, Koroleva KP*. Opyt primenenija gistojekvivalent-bioplasticheskogo materiala gialuronovoj kisloty v hirurgii. Rany i ranevye infekcii. *Zhurnal im. prof. B.M. Kostjuchenka*. 2017; 4 (3): 30–35.
52. *Нурмухамбетов ЖН, Нурмухамбетова АЖ, Богатова СА*. Искусственная биокожа «Гиаматрикс» в лечении трофических язв. *Наука и здравоохранение*. 2013; 1: 52–54. *Nurmuhambetov ZhN, Nurmuhambetova AZh, Bogatova SA*. Iskusstvennaja biokozha «Giamatriks» v lechenii troficheskih jazv. *Nauka i zdravoohranenie*. 2013; 1: 52–54.
53. *Забиров РА, Рахматуллин РР, Каркаева СМ*. Пластика дефектов барабанной перепонки биопластическим материалом «Гиаматрикс». Оренбург: ДИМУР, 2013; 144. *Zabirov RA, Rahmatullin RR, Karkaeva SM*. Plasti-

ka defektov barabannoj pereponki bioplasticheskim materialom «Giamatriks». Orenburg: DIMUR, 2013; 144.
54. *Бурлуцкая ОИ, Рахматуллин РР, Бурцева ТИ*. Деструктурированная гиалуроновая кислота и пептидный комплекс: возможности anti-age терапии. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2014; 2: 47–51. *Burluckaja OI, Rahmatullin RR, Burceva TI*. Destrukturirovannaja gialuronovaja kislota i peptidnyj kompleks: vozmozhnosti anti-age terapii. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja dermatokosmetologija*. 2014; 2: 47–51.
55. *Bayer IS*. Advances in Fibrin-Based Materials in Wound Repair: A Review. *Molecules*. 2022; 27 (14): 4504. doi: 10.3390/molecules27144504.
56. *Kearney KJ, Ariëns RAS, Macrae FL*. The Role of Fibrin(ogen) in Wound Healing and Infection Control. *Semin Thromb Hemost*. 2022; 48 (2): 174–187. doi: 10.1055/s-0041-1732467.
57. *Pereira RVS, EzEldeen M, Ugarte-Berzal E, Martens E, Malengier-Devlies B, Vandooren J et al*. Physiological fibrin hydrogel modulates immune cells and molecules and accelerates mouse skin wound healing. *Front Immunol*. 2023; 14: 1170153. doi: 10.3389/fimmu.2023.1170153.
58. *Qiu Y, Bao S, Wei H, Miron RJ, Bao S, Zhang Y et al*. Bacterial exclusion and wound healing potential of horizontal platelet-rich fibrin (H-PRF) membranes when compared to 2 commercially available collagen membranes. *Clin Oral Investig*. 2023; 27 (8): 4795–4802. doi: 10.1007/s00784-023-05108-w.
59. *Liu W, Jawerth LM, Sparks EA, Falvo MR, Hantgan RR, Superfine R et al*. Fibrin fibers have extraordinary extensibility and elasticity. *Science*. 2006; 313 (5787): 634. doi: 10.1126/science.1127317.
60. *Zarb Adami R*. The pre-clinical evaluation of a synthetic fibrin-alginate dermal scaffold: the Smart Matrix™ [Doctoral dissertation]. 2019. Available from: https://www.um.edu.mt/library/oar/handle/123456789/71019.
61. *Brown SJ, Surti F, Sibbons P, Hook L*. Wound healing properties of a fibrin-based dermal replacement scaffold. *Biomed Phys Eng Express*. 2021; 8 (1). doi: 10.1088/2057-1976/ac4176.
62. *Sharma V, Kohli N, Moulding D, Afolabi H, Hook L, Mason C et al*. Design of a Novel Two-Component Hybrid Dermal Scaffold for the Treatment of Pressure Sores. *Macromol Biosci*. 2017; 17 (11). doi: 10.1002/mabi.201700185.
63. Manufacturingchemist.com [Internet] Wound care product supports healing without skin graft [Published: 20-Mar-2017]. Available from: https://manufacturingchemist.com/wound-care-product-supports-healing-without-skin-graft-127163#:~:text=Smart%20Matrix%20is%20a%20scaffold,technology%20developed%20by%20RAFT%20scientists.
64. *Zhou G, Zhu J, Inverarity C, Fang Y, Zhang Z, Ye H et al*. Fabrication of Fibrin/Polyvinyl Alcohol Scaffolds for Skin Tissue Engineering via Emulsion Templating. *Polymers (Basel)*. 2023; 15 (5): 1151. doi: 10.3390/polym15051151.
65. *Mohamed Haflah NH, Ng MH, Mohd Yunus MH, Naicker AS, Htwe O, Abdul Razak KA et al*. Massive Traumatic Skin Defect Successfully Treated with Autologous, Bilayered, Tissue-Engineered MyDerm Skin Substitute: A Case Report. *JBJS Case Connect*. 2018; 8 (2): e38. doi: 10.2106/JBJS.CC.17.00250.
66. *Martin-Piedra MA, Carmona G, Campos F, Carriel V, Fernández-González A, Campos A et al*. Histological assessment of nanostructured fibrin-agarose skin substitutes grafted in burnt patients. A time-course study. *Bioeng Transl Med*. 2023; 8 (6): e10572. doi: 10.1002/btm2.10572.
67. *Cheshire PA, Herson MR, Cleland H, Akbarzadeh S*. Artificial dermal templates: A comparative study of NovoSorb™ Biodegradable Temporising Matrix (BTM) and Integra(®) Dermal Regeneration Template (DRT). *Burns*. 2016; 42 (5): 1088–1096. doi: 10.1016/j.burns.2016.01.028.
68. *Wagstaff MJ, Driver S, Coghlan P, Greenwood JE*. A randomized, controlled trial of negative pressure wound therapy of pressure ulcers via a novel polyurethane foam. *Wound Repair Regen*. 2014; 22 (2): 205–211. doi: 10.1111/wrr.12146.
69. *Li H, Lim P, Stanley E, Lee G, Lin S, Neoh D et al*. Experience with NovoSorb® Biodegradable Temporising Matrix in reconstruction of complex wounds. *ANZ J Surg*. 2021; 91 (9): 1744–1750. doi: 10.1111/ans.16936.
70. *Lo CH, Wagstaff MJD, Barker TM, Damkat-Thomas L, Salerno S, Holden D et al*. Long-term scarring outcomes and safety of patients treated with NovoSorb® Biodegradable Temporizing Matrix (BTM): An observational cohort study. *JPRAS Open*. 2023; 37: 42–51. doi: 10.1016/j.jpra.2023.05.003.
71. *Guerriero FP, Clark RA, Miller M, Delaney CL*. Overcoming Barriers to Wound Healing in a Neuropathic and Neuro-Ischaemic Diabetic Foot Cohort Using a Novel Bilayer Biodegradable Synthetic Matrix. *Biomedicines*. 2023; 11 (3): 721. doi: 10.3390/biomedicines11030721.
72. *Lim P, Li H, Ng S*. Novosorb® Biodegradable Temporising Matrix (BTM) and its Applications. *Surg Technol Int*. 2023; 42: 47–52. PMID: 37053370.
73. *Conway L, Snashall E, Gill P, Harper-Machin A*. The Use of Novosorb Biodegradable Temporizing Matrix for Reconstruction in Head and Neck Cancer: A Simple Answer to a Complex Problem. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2025; 13 (4): e6702. doi: 10.1097/GOX.0000000000006702.
74. *Greenwood J, Li A, Dearman B, Moore T*. Evaluation of NovoSorb novel biodegradable polymer for the generation of a dermal matrix part 1: in-vitro studies. *Wound Pract Res*. 2010; 18: 14–22.
75. *Greenwood J, Li A, Dearman B, Moore T*. Evaluation of NovoSorb novel biodegradable polymer for the generation of a dermal matrix part 2: in-vivo studies. *Wound Pract Res*. 2010; 18: 24–34.
76. *Lescan M, Perl RM, Golombek S, Pilz M, Hann L, Yasmin M et al*. *De Novo* Synthesis of Elastin by Exogenous Delivery of Synthetic Modified mRNA into Skin and

Elastin-Deficient Cells. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2018; 11: 475–484. doi: 10.1016/j.omtn.2018.03.013.
77. *Shapiro SD, Endicott SK, Province MA, Pierce JA, Campbell EJ*. Marked longevity of human lung parenchymal elastic fibers deduced from prevalence of D-aspartate and nuclear weapons-related radiocarbon. *J Clin Invest*. 1991; 87 (5): 1828–1834. doi: 10.1172/JCI115204.
78. *Procknow SS, Kozel BA*. Emerging mechanisms of elastin transcriptional regulation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022; 323 (3): C666–C677. doi: 10.1152/ajpcell.00228.2022.
79. *Ozsvar J, Yang C, Cain SA, Baldock C, Tarakanova A, Weiss AS*. Tropoelastin and Elastin Assembly. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021; 9: 643110. doi: 10.3389/fbioe.2021.643110.
80. *Gardeazabal L, Izeta A*. Elastin and collagen fibres in cutaneous wound healing. *Exp Dermatol*. 2024; 33 (3): e15052. doi: 10.1111/exd.15052.
81. *Baumann L, Bernstein EF, Weiss AS, Bates D, Humphrey S, Silberberg M et al*. Clinical Relevance of Elastin in the Structure and Function of Skin. *Aesthet Surg J Open Forum*. 2021; 3 (3): ojab019. doi: 10.1093/asjof/ojab019.
82. *Rosadas M, Silva IV, Costa JB, Ribeiro VP, Oliveira AL*. Decellularized dermal matrices: unleashing the potential in tissue engineering and regenerative medicine. *Frontiers in Materials*. 2024; 10: 1285948. doi.org/10.3389/fmats.2023.1285948.
83. *Mithieux SM, Weiss AS*. Design of an elastin-layered dermal regeneration template. *Acta Biomater*. 2017; 52: 33–40. doi: 10.1016/j.actbio.2016.11.054.
84. *Almeida-González FR, González-Vázquez A, Mithieux SM, O'Brien FJ, Weiss AS, Brougham CM*. A step closer to elastogenesis on demand; Inducing mature elastic fibre deposition in a natural biomaterial scaffold. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021; 120: 111788. doi: 10.1016/j.msec.2020.111788.
85. *Tian DM, Wan HH, Chen JR, Ye YB, He Y, Liu Y et al*. In-situ formed elastin-based hydrogels enhance wound healing via promoting innate immune cells recruitment and angiogenesis. *Mater Today Bio*. 2022; 15: 100300. doi: 10.1016/j.mtbio.2022.100300.
86. *Wang Z, Shi H, Silveira PA, Mithieux SM, Wong WC, Liu L et al*. Tropoelastin modulates systemic and local tissue responses to enhance wound healing. *Acta Biomater*. 2024; 184: 54–67. doi: 10.1016/j.actbio.2024.06.009.
87. *Dearman BL, Boyce ST, Greenwood JE*. Advances in Skin Tissue Bioengineering and the Challenges of Clinical Translation. *Front Surg*. 2021; 8: 640879. doi: 10.3389/fsurg.2021.640879.
88. *Aleemardani M, Trikić MZ, Green NH, Claeyssens F*. The Importance of Mimicking Dermal-Epidermal Junction for Skin Tissue Engineering: A Review. *Bioengineering (Basel)*. 2021; 8 (11): 148. doi: 10.3390/bioengineering8110148.
89. *Tavakoli M, Al-Musawi MH, Kalali A, Shekarchizadeh A, Kaviani Y, Mansouri A et al*. Platelet rich fibrin and simvastatin-loaded pectin-based 3D printed-electrospun bilayer scaffold for skin tissue regeneration. *Int J Biol Macromol*. 2024; 265 (Pt 1): 130954. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130954.
90. *Obaíd ML, Carvajal F, Camacho JP, Corrales-Orovio R, Martorell X, Varas J et al*. Case report: Long-term follow-up of a large full-thickness skin defect treated with a photosynthetic scaffold for dermal regeneration. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 1004155. doi: 10.3389/fbioe.2022.1004155.
91. *Egorikhina MN, Rubtsova YP, Charykova IN, Bugrova ML, Bronnikova II, Mukhina PA et al*. Biopolymer Hydrogel Scaffold as an Artificial Cell Niche for Mesenchymal Stem Cells. *Polymers (Basel)*. 2020; 12 (11): 2550. doi: 10.3390/polym12112550.
92. *Kondratenko AA, Chernov VE, Tovpeko DV, Volov DA, Beliy NV, Zemlyanoy DA, Kalyuzhnaya LI*. Bacteriostatic effects of cell-free matrix lyophilisates and hydrogel from human umbilical cord. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2024; 26 (3): 361–372. doi: 10.17816/brmma629139.
93. *Blackstone BN, Baumann ME, Gallentine SC, Supp DM, Bailey JK, Powell HM*. Laser micropatterned dermal templates support early rete ridge formation and basement membrane deposition when used with cultured epithelial autografts. *Burns*. 2025; 51 (8): 107613. doi: 10.1016/j.burns.2025.107613.

Статья поступила в редакцию 10.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 10.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-188-201

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЛОГЕННЫХ БЕСКЛЕТОЧНЫХ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОСТИШЕМИЧЕСКОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА

С.А. Афанасьев[1], Б.А. Закопайко[2], Д.С. Кондратьева[1], Д.А. Земляной[3], Д.В. Рагузина[2], С.В. Попов[1]

[1] Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Российская Федерация
[2] ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Развитие регенеративной медицины дало основание для оправданного ожидания разработки альтернативных методов лечения сердечной недостаточности и других патологий сердечно-сосудистой системы. Одним из перспективных направлений для этого является создание гелеобразующих материалов на основе децеллюляризированных межклеточных матриксов различных тканей. Сообщения об эффективности использования таких материалов в эксперименте варьируют от высокой до весьма сомнительной. Причиной этого могут являться различия в тканях, используемых для получения матрикса, протоколах и эффективности их децеллюляризации. В настоящем обзоре представлены исследования, характеризующие перспективность применения бесклеточных инъекционных продуктов из биологических аллогенных материалов для стимуляции эндогенных саногенетических механизмов регенерации сердечной мышцы.

Ключевые слова: регенеративная медицина, межклеточный матрикс, децеллюляризация, тканевая инженерия, пуповина, регенерация миокарда.

PROSPECTS FOR ALLOGENEIC ACELLULAR TISSUE-ENGINEERED PRODUCTS IN THE MANAGEMENT OF POST-ISCHEMIC MYOCARDIAL REMODELING

S.A. Afanasiev[1], B.A. Zakopayko[2], D.S. Kondratieva[1], D.A. Zemlyanoy[3], D.V. Raguzina[2], S.V. Popov[1]

[1] Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, Russian Federation
[2] Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation
[3] St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Advances in regenerative medicine have generated strong interest in the development of alternative treatments for heart failure and other cardiovascular diseases. Among these, gel-forming materials derived from decellularized extracellular matrices of various tissues have emerged as a promising avenue. However, reported outcomes of their effectiveness remain inconsistent, ranging from high to highly questionable. This may be due to differences in the tissues used to obtain the matrix, decellularization protocols and efficiency. This review summarizes current studies evaluating the potential of acellular injectable products derived from allogeneic biological sources to stimulate endogenous sanogenetic mechanisms in cardiac muscle regeneration.

Keywords: regenerative medicine, extracellular matrix, decellularization, tissue engineering, umbilical cord, myocardial regeneration.

Для корреспонденции: Афанасьев Сергей Александрович. Адрес: 634012, Томск, ул. Киевская, д. 111а. Тел. (382) 255-50-57. E-mail: Tursky@cardio-tomsk.ru

Corresponding author: Sergey Afanasiev. Address: 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russia. Phone: (382) 255-50-57. E-mail: Tursky@cardio-tomsk.ru

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая сердечная недостаточность остается ведущей причиной инвалидизации и летальности среди пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Сохранение функциональной состоятельности миокарда позволит избежать прогрессирования сердечной недостаточности, в том числе при постинфарктном ремоделировании сердца [1]. Высокий риск его неблагоприятного развития обусловлен безвозвратной потерей рабочих кардиомиоцитов после ишемического воздействия как непосредственно в участке некроза и периинфарктной зоне, так и в ходе последующей интенсификации их апоптоза. Неспособность кардиомиоцитов человека к делению определяет общую стратегию репарации сердечной мышцы путем замещения погибших кардиомиоцитов соединительной тканью [2]. Существующие тактики лечения пациентов с сердечной недостаточностью реализуются через повышение функциональной активности сохранных кардиомиоцитов и поддержание их жизнеспособности [3, 4].

Ожидалось, что регенеративная медицина сможет предложить принципиально новые подходы к лечению, позволяющие добиться формирования тканеспецифичного регенерата на месте некротического участка миокарда [5]. При этом наиболее очевидным подходом представлялось осуществление трансплантации соответствующего клеточного материала в зону поражения в расчете на прямое замещение погибших клеток либо через оказание паракринного эффекта на резидентные стволовые клетки. Работами в этом направлении отметились практически все ведущие кардиологические центры страны [6–10]. Однако последующие исследования выявили целый ряд проблем, не позволяющих рассматривать клеточные технологии как ближайшую перспективу при восстановлении сердечной мышцы.

Развитие регенеративной медицины показало, что влиять на успешность регенерации пораженных участков биологических тканей можно не только через трансплантацию клеточного материала, но и используя природные освобожденные от клеток внеклеточные матриксы. Если раньше таким матриксам отводилась роль пассивной пространственной опоры тканеспецифичных клеток, то в настоящее время их рассматривают как ключевой фактор, определяющий микроокружение и межклеточное взаимодействие [11, 12]. Такие материалы лишены иммуногенности, не требуют жестких условий хранения и предполагают большую свободу применения.

Цель обзора – представить исследования, характеризующие перспективность применения бесклеточных инъекционных продуктов из аллогенных материалов для стимуляции эндогенных саногенетических механизмов регенерации сердечной мышцы.

РОЛЬ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА В СТРУКТУРЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНИ

Любая биологическая ткань образована клетками и окружающей их средой, содержащей как растворимые, так и нерастворимые структурные компоненты. Нерастворимые компоненты формируют трехмерную сеть, определяющую пространственную ориентацию и взаимодействие клеток. Эта сеть рассматривается как внеклеточный матрикс. Исследования последних 20 лет дают основания считать, что состояние внеклеточного матрикса не только определяет целостность ткани, но и влияет на функциональную состоятельность органоспецифичных клеток.

Важным дополнением к представлению о внеклеточном матриксе являются данные о его способности определять регенеративный потенциал ткани. Показано влияние внеклеточного матрикса на активность фибробластов, резидентных и пришлых стволовых клеток. Большое значение придается влиянию внеклеточного матрикса на макрофаги.

Все сказанное в полной мере относится и к внеклеточному матриксу миокарда. У половозрелых млекопитающих миокард представляет собой синцитий, состоящий из клеточных элементов, представленных кардиомиоцитами и интерстициальными клетками, объединенных в единую объемную структуру сетью внеклеточного матрикса, имеющего сложный структурный и химический состав [13].

В матриксе выделяют перицеллюлярный и интерстициальный слои [14]. Перицеллюлярный слой находится в непосредственной близости от клеточных компонентов, в его составе выделяют базальную мембрану, представленную компонентами, находящимися в прямом контакте с клетками [15]. Интерстициальный слой внеклеточного матрикса формирует собственно объемную структуру миокарда.

Базовое представление о внеклеточном матриксе миокарда ассоциировано с белком коллагеном [16]. Коллаген действительно составляет основу интерстициального слоя внеклеточного матрикса. Его стержневые волокна образованы коллагеном I типа, а более тонкая сеть сформирована коллагеном III типа. Ремоделирование внеклеточного матрикса как в ходе онтогенеза, так и при патологии сопровождается изменением баланса его компонентов [17]. Поддержание устойчивой геометрии сердца и эластичности миокарда определенно подчеркивает ведущее значение именно интерстициальный части внеклеточного матрикса. Однако это обстоятельство, а также преобладание коллагенов в структуре внеклеточного матрикса не умаляет роли и значения других его компонентов в полноценном функционировании внеклеточного матрикса, особенно при обеспечении контактов с клетками и их взаимодействия в биологической ткани [18]. Установлено, что в число этих

компонентов входят вещества, относящиеся к гликозаминогликанам, гликопротеинам, протеогликанам, а также связанные с ними протеазы, факторы роста и фибронектин [13, 19]. Показано, что компоненты перицеллюлярного матрикса, входящие в состав базальной мембраны, взаимодействуют с гликокаликсом и интегральными белками сарколеммной мембраны кардиомиоцитов, а через них осуществляется контакт с цитоскелетом и контрактильным аппаратом кардиомиоцитов [13, 20]. Компоненты матрикса могут влиять на пролиферативную активность клеток [21], а также их миграцию и дифференцировку [22–26].

ИЗМЕНЕНИЕ МАТРИКСА С ВОЗРАСТОМ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Старение и болезни могут приводить к изменениям состава и структуры матрикса [27, 28]. Впоследствии эти изменения способны влиять на фенотип и функцию клеток [29–31]. С увеличением нагрузки на сердце в процессе онтогенеза и при заболеваниях внеклеточный матрикс подвергается значительным изменениям. Эти изменения, как правило, имеют адаптивно-приспособительную направленность. Однако при старении и при патологиях сердечно-сосудистой системы изменение структуры матрикса и расширение камер сердца могут оказывать и негативное влияние на функцию миокарда. В таких случаях говорят о развитии фиброза сердечной мышцы [32]. При старении формируется интерстициальный фиброз, выражающийся в избыточном образовании или повышении жесткости структурных белков внеклеточного матрикса [33, 34]. При повреждении миокарда развивается замещающий фиброз. Он отражает ограниченную регенераторную возможность миокарда и формируется на месте гибели кардиомиоцитов [35]. Показана связь между отложением коллагена и жесткостью миокарда у пациентов, перенесших инфаркт миокарда [27, 36].

ВЕРОЯТНАЯ РОЛЬ БАЛАНСА СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА В ОБЕСПЕЧЕНИИ ФУНКЦИИ МИОКАРДА

Независимо от формы фиброза избыточное образование внеклеточного матрикса нарушает и взаимодействие между кардиомиоцитами, и их метаболизм. Фиброз, изменяя баланс протеаз и антипротеаз, может способствовать деградации фибриллярных коллагенов и нарушать контакты белков матрикса с кардиомиоцитами. Фиброз характеризуется изменением представительства и взаимодействия между фибриллярными и нефибриллярными коллагенами. Нарушение коллагеновой структуры межклеточного матрикса влияет через экспрессию генов на активность матрицеллюлярных белков и протеогликанов [37, 38]. Для патологического миокарда характерно изменение спектра малых протеогликанов. Для некоторых из них показана способность усиливать фиброз и сократительную дисфункцию миокарда [39–41].

Основное влияние на состояние внеклеточного матрикса в миокарде оказывают резидентные фибробласты, переходящие в активном состоянии в миофибробласты [42]. В свою очередь, этот переход тоже регулируется внеклеточным матриксом [43, 44]. Структурные изменения матрикса могут инициировать миграцию иммунных клеток, развитие воспалительной реакции и в конечном итоге гибель кардиомиоцитов [45].

Изменение структуры межклеточного матрикса происходит не только из-за избыточного синтеза тех или иных его компонентов. Так, показано, что тучные клетки и макрофаги через синтез матриксных металлопротеиназ и провоспалительных цитокинов нарушают баланс между активностью протеаз и их ингибиторов. Это ведет к локальному формированию протеолитической среды и деградации белков внеклеточного матрикса [46]. Показано, что активность протеаз может усиливаться под влиянием провоспалительных цитокинов [47]. Металлопротеиназы могут расщеплять трансмембранные рецепторы [48], а некоторые из них могут выступать в качестве внутриклеточных медиаторов, усиливая деградацию контрактильных белков кардиомиоцитов [49]. Напротив, при активации ингибиторов металлопротеиназ показано усиление фиброза и опять-таки нарушение функциональной состоятельности кардиомиоцитов [50].

Отмечается, что структурные компоненты внеклеточного матрикса способны влиять на активность эндогенных механизмов регенерации [51]. Так, показано, что матрикс может влияет на вступление в клеточный цикл предшественников кардиомиоцитов и новорожденных кардиомиоцитов [52, 53].

ВОССТАНОВЛЕНИЕ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ПОСЛЕ ИНФАРКТА

Для сердца человека и большинства млекопитающих образование соединительно-тканного рубца является единственным вариантов заживления после инфаркта и других деструктивных воздействий [54]. Однако показано, что ремоделирование внеклеточного матрикса после инфаркта влияет на реализацию эффектов мезенхимальных стволовых клеток. В частности, приводятся данные о том, что у крыс после экспериментального инфаркта миокарда молекулы межклеточного матрикса способны инициировать изменение секретом мезенхемальных стволовых клеток, чем оказывают цитопротекторный эффект на кардиомиоциты периинфарктной зоны [55]. Более того, авторы этого исследования отмечают, что та-

кой матрикс был способен инициировать секрецию проангиогенных, антифибротических и иммуномодулирующих факторов роста.

В процессе заживления поврежденного участка миокарда принято выделять несколько этапов [35]. Так, гибель кардиомиоцитов запускает воспалительную фазу регенерации. В эту фазу происходит не только элиминация погибших клеток, но постепенное разрушение окружающего их внеклеточного матрикса. Продукты деградации матрикса служат хемоаттрактантами для резидентных фибробластов и макрофагов. Разрушающийся матрикс на первых порах замещается волокнами фибрина, образующегося из фибриногена и плазменного фибронектина [56]. Их обильно инфильтрируют иммунные клетки, которые завершают процесс утилизации поврежденной ткани миокарда.

По мере постепенного угасания активности воспалительной реакции заживление миокарда переходит в фазу пролиферации. Она характеризуется тем, что миофибробласты в зоне повреждения начинают активную выработку коллагена и других белков внеклеточного матрикса [57]. Репаративная роль миофибробластов при инфаркте миокарда в настоящее время очевидна [58]. Динамичность протекания этой фазы предупреждает разрыв стенки сердца, что особенно актуально при интрамуральном инфаркте. Заживление миокарда завершается фазой созревания. В это время завершается сшивка вновь синтезированных коллагеновых волокон. При благоприятном развитии процесса активность миофибробластов угасает и дальнейшего разрастания соединительной ткани не происходит [59].

Однако безвозвратная потеря кардиомиоцитов повышает функциональную нагрузку на оставшиеся клетки, запуская процесс их гипертрофии. Это провоцирует изменение внеклеточного матрикса, поддерживает активность макрофагов и фибробластов, что создает условия для развития интерстициального фиброза и системной перестройки матрикса миокарда [60, 61]. Неблагоприятным ремоделированием постинфарктного рубца считается формирование плотного коллагенового фиброза [62].

ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС МИОКАРДА КАК ВОЗМОЖНАЯ МИШЕНЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ

На основании имеющихся в настоящее время данных о строении биологических тканей, и миокарда в частности, можно говорить, что внеклеточный матрикс имеет не меньшее значение для их функционирования, чем тканеспецифичные клетки. Логично допустить, что прямое воздействие на внеклеточный матрикс может предотвратить неблагоприятное ремоделирование сердца. Разработка подходов, контролирующих процессы синтеза и сшивания коллагеновых волокон при восстановлении внеклеточного матрикса в зоне некроза после инфаркта миокарда, вероятно, позволит избежать фиброзных изменений в пограничных участках миокарда и его диастолической дисфункции. Будет возможно предупредить развитие дилатационного ремоделирования и сердечной недостаточности.

Полноценное восстановление внеклеточного матрикса предполагает баланс между всеми процессами, определяющими метаболизм этой структуры. При гиперактивном формировании матрикса может потребоваться замедление процессов синтеза или сшивания компонентов межклеточного матрикса.

В экспериментальных исследованиях показано, что для заживления миокарда важно контролировать не только образование стромальных коллагеновых волокон, но и присутствие компонентов перицеллюлярного матрикса. Их наличие предупреждает неблагоприятное ремоделирование [63–65]. При этом отмечается, что присутствие матричных макромолекул способно стимулировать пролиферацию кардиомиоцитов у новорожденных и даже взрослых животных.

Возможность направленного воздействия на внеклеточный матрикс сердца с целью коррекции или активации программы его регенерации остается предметом научного поиска. Признается важность согласованного восстановления структуры матрикса и инициации пролиферации кардиомиоцитов или клеток предшественников.

В настоящее время нет однозначного мнения о способности внеклеточного матрикса миокарда взрослых животных перезапустить программу регенерации для полноценного восстановления утраченного участка.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ИЗ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА

Наверное, основным фактом, на котором базируется идея использовать имплантацию бесклеточных продуктов, полученных из внеклеточных матриксов, для стимуляции регенеративных процессов, можно считать наличие в них структур, способных влиять на активность эндогенных механизмов регенерации. В настоящее время признается, что внеклеточный матрикс содержит сотни компонентов, большинство из которых обладает биологической активностью [66, 67].

Биологически активные молекулы высвобождаются из продукта, изготовленного на основе внеклеточного матрикса биоматериала, при его деградации после имплантации. Они оказывают модулирую-

щее действие на клетки, инфильтрирующие зону поражения, и получили название матрикинов, или матрикриптинов [68–71]. Показано, что молекулы, освобождающиеся при деградации имплантата под влиянием металломатриксных протеиназ, способны быть хемоаттрактантами для иммунных и стволовых клеток, обеспечивая направленное движение клеток реципиента к участку поражения и имплантату [72]. Продукты деградации способны изменять фенотип мигрированных клеток [73–75], их пролиферативную активность [76] и дифференцировку [77].

На основании данных о том, что компоненты перицеллюлярного матрикса являются регуляторами функционального состояния клеток и тканевого гомеостаза, высказывались ожидания, что биоматериалы на основе внеклеточного матрикса будут способны обеспечить поддержание микроокружения, оптимального для восстановления поврежденных тканей. В исследованиях, выполненных в рамках развития этой концепции, было показано, что продукты деградации внеклеточного матрикса способны определять и поддерживать оптимальный для регенерации фенотип иммунных клеток, мигрирующих в зону поражения [72, 78–80]. Оказалось, что фрагменты деградации аллогенного бесклеточного материала, имплантированного в бассейн стенозированной коронарной артерии, влияют на фенотип макрофагов, мигрирующих в зону поражения [81]. При этом показано, что присутствие имплантата обеспечивало поддержание макрофагов в противовоспалительном М2-фенотипе. После окончательной деградации имплантированного изделия преобладающим фенотипом становился провоспалительный М1-фенотип макрофагов. Аналогичный результат получен и другими исследователями [82]. Более того, показано, что преобладание макрофагов М2-фенотипа в присутствии имплантированного бесклеточного матрикса сопряжено с высокой экспрессией соответствующих генов. Напротив, преобладание макрофагов М1-фенотипа после полной деградации имплантата сопряжено с обратным изменением в экспрессии этих генов и увеличением экспрессии генов, связанных с макрофагами М1-фенотипа. Поддержание высокого соотношения М2/М1 признается важным фактором для формирования тканеспецифичного регенерата [83]. Взаимодействие имплантированного биоматериала с иммунной системой хозяина признается важным фактором восстановления сердца [84, 85].

Еще одним механизмом, благодаря которому имплантаты из бесклеточного матрикса способствуют лучшему восстановлению миокарда, является стимуляция кардиомиогенеза [86]. В ишемически поврежденном миокарде молекулы деградации имплантированного матрикса способны выступать в качестве индукторов аутогенных стволовых и коммиттированных клеток [87]. Продукты биодеградации имплантата являются хемоаттрактантами для c-kit-клеток, определяя их дифференциацию в кардиомиогенные GATA-4-клетки [88].

На основании анализа научных данных можно сделать заключение, что формирование тканеспецифичного регенерата не является самоподдерживающимся процессом и после окончательной деградации имплантированного материала он постепенно затухает. В частности, показано, что выраженность рубцового перерождения миокарда при экспериментальном инфаркте обратно пропорциональна количеству введенного биоматериала [86]. При этом было отмечено, что важным условием для успешного развития процесса регенерации является достижение постепенного высвобождения биологически активных молекул при деградации имплантированных продуктов из внеклеточного матрикса.

В настоящее время нет рекомендаций по использованию тканеинженерных продуктов для стимуляции регенеративных процессов в практике лечения кардиологических больных. Одним из препятствий для этого является способ применения таких материалов, предполагающий их интрамиокардиальное введение, или прямой контакт с поверхностью сердца. Оба эти варианта являются отражением одного из постулатов, сформировавшихся в процессе развития регенеративной медицины. Он предполагает необходимость обеспечения адресной доставки имплантируемого материала [89]. При всей очевидной правильности этого постулата относительно использования клеточных продуктов остается желание разработать бесклеточный продукт, допускающий внутривенное применение. Так, есть сообщения об экспериментальных исследованиях эффективности внутрисосудистого введения бесклеточных препаратов из матрикса для оптимизации постинфарктного ремоделирования [90, 91]. Предполагается, что разработка такой технологии позволит использовать бесклеточные тканеинженерные продукты при лечении острого инфаркта миокарда. Авторы этого исследования на мелких и на крупных лабораторных животных показали возможность внутрисосудистого введения гидрогеля из децеллюляризированного матрикса для лечения острого инфаркта миокарда. После его инфузии у крыс было отмечено снижение негативного постинфарктного ремоделирования левого желудочка. Показано, что введенный материал локализовался в бассейне артерии, связанной с инфарктом. Авторы исследования отмечают, что ими был разработан специальный протокол, позволяющий получить внеклеточный матрикс, пригодный для внутрисосудистой инфузии. Этот протокол включал центрифугирование, диализ и фильтрацию для удаления из растворенного матрикса высокомолекулярных пептидов. В результате такой обработки компоненты матрикса присутствуют в растворе в виде нанораз-

мерных структур. Они встраиваются в промежутки между эндотелиальными клетками коронарных сосудов, снижая их патологическую проницаемость в зоне поражения и препятствуя развитию клеточной инфильтрации. Однако этот материал не способен проникать глубоко в пораженный участок миокарда. Авторы этой разработки отмечают, что для удержания гидрогеля в зоне поражения необходима именно повышенная проницаемость сосудистой стенки. Кроме этого, они указывали, что биологическая активность гидрогеля, пригодного для внутрисосудистой инфузии, отличается от активности бесклеточного матрикса из-за разницы в структуре и химическом составе [91, 92]. В конечном итоге материал, пригодный для внутрисосудистой инфузии, по своим свойствам приближается к пептидным терапевтическим средствам [93]. Такой подход перекликается с попытками определить конкретные компоненты матрикса, использование которых позволит обеспечить формирование наиболее полноценного тканеспецифичного регенерата [94].

Однако экспериментальные исследования с интрамиокардиальным введением бесклеточных тканеинженерных продуктов представляются достаточно обнадеживающими. Важным результатом таких исследований является демонстрация значимых улучшений функциональной состоятельности сердечной мышцы после экспериментального инфаркта, регенераторная программа которой была скорректирована имплантацией бесклеточного биологического продукта. Показано, что даже однократная имплантация бесклеточного изделия в сердечную мышцу сразу после экспериментального инфаркта обеспечивает лучшее протекание постинфарктного ремоделирования как на тканевом, так и на органном уровне [95, 96]. Животные, у которых постинфарктное ремоделирование сердца развивалось на фоне инъекции бесклеточного продукта, имели существенно лучшую толерантность к физической нагрузке. Прижизненное МРТ-исследование сердца таких животных показало значимо меньший объем пораженного миокарда и нарушений внутрисердечной гемодинамики. Эти исследования показывают возможность создания положительного эффекта в рамках целого органа при локальном применении продукта из внеклеточного матрикса.

При исследовании изолированных фрагментов миокарда было продемонстрировано, что применение бесклеточного продукта обеспечило сохранение функциональной состоятельности миокарда в периинфарктной зоне. Показано, что биоинженерный продукт влиял на баланс металлопротеиназ и их ингибиторов в миокарде после ишемического повреждения [97]. Продукты биодеградации бесклеточного имплантата снижают скорость рубцевания, оказывают кардиопротективный эффект, индуцируя клеточную регенерацию ишемически поврежденного миокарда, и в конечном итоге способны уменьшать площадь формирующегося рубца [98].

Важным результатом исследования регенеративного потенциала бесклеточного тканеинженерного продукта стали данные о том, что его использование может быть эффективно и на поздних этапах постинфарктного ремоделирования. Так, показана способность биоинженерного продукта, введенного интрамиокардиально в подострой стадии инфаркта, инициировать формирование мышечно-соединительно-тканного регенерата и эффективно предупреждать его рубцовое перерождение [99, 100].

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БЕСКЛЕТОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА

Развитие регенеративной медицины показало, что ее ориентация на использование клеточных продуктов далеко не всегда оправдана. Это обусловлено значительными трудностями получения биологического донорского материала, выделения клеток, определения их принадлежности к конкретным фенотипам, масштабирования, хранения и последующего использования, а также приживления в организме реципиента. Продукты из децеллюляризованного внеклеточного матрикса лишены большинства этих недостатков. Важными преимуществами являются длительное сохранение их биологических характеристик, возможность создания запасов медицинских изделий, надежная неразрушительная стерилизация и простота использования. Действительно, процесс изготовления бесклеточных матриксов более прост [101, 102], а такие методы обработки, как лиофилизация и финишная стерилизация, позволяют обеспечить срок сохранности конечного продукта не менее двух лет. При этом участие внеклеточного матрикса в регенерации пораженной ткани значительно более многогранно, чем это представлялось два десятилетия назад.

Однако вопрос о происхождении биоматериала для изготовления тканеинженерного продукта не теряет актуальности. В настоящее время оптимальным считают создание продуктов из биоматериала, гомологичного и по происхождению (аллогенного), и функционально [103, 104]. Так, костный имплантат предназначен для регенерации костной ткани, матрикс из мягких тканей – для регенерации мышечной ткани, а для заживления дефектов кожи следует использовать матрикс кожи. Правомерность такого подхода представляется вполне очевидной, поскольку он учитывает тканеспецифичную особенность внеклеточного матрикса поврежденного органа и позволяет скомпенсировать недостаток наших зна-

ний о механизмах, определяющих эффективность регенерации конкретной ткани.

Достаточно много сообщений об использовании децеллюляризированного внеклеточного матрикса миокарда для восстановления сердца после его деструктивного поражения [105–112]. В то же время такой подход, вероятно, имеет свои ограничения, и прежде всего из-за специфики происхождении донорского биоматериала. Как правило, это кадаверный материал, а возможности его использования в РФ ограничены ввиду отсутствия заверенного при жизни согласия умершего донора и продолжительности времени, затрачиваемого на нотариальное оформление согласия родственников умершего, в течение которого происходит посмертное разрушение структур тканей донора [113]. Понятно, что при жизни доноры с высокой вероятностью были подвержены тем или иным хроническим патологиям, которые могли повлиять на состав и свойства внеклеточного матрикса. В этих условиях сложно прогнозировать регенеративные эффекты изделий, изготовленных из разных исходных материалов. Представляется, что использование миокарда человека более оправдано для создания объемных тканеинженерных конструкций целого сердца или сосудистых имплантатов малого диаметра с их последующим заселением клеточным материалом [114, 115].

В последние годы благодаря успешному развитию клеточных технологий стало реальным получать внеклеточный матрикс, используя клеточные культуры [116–119]. Действительно, клетки *in vitro* продуцируют матриксные структуры, которые можно выделить и лиофилизировать. Однако количество создаваемого матрикса напрямую зависит от степени масштабирования популяции клеток-производителей. Кроме того, пока исследования в этой области касаются использования одного фенотипа клеточной культуры, в то время как в любой ткани одновременно производят матриксные структуры клетки разных типов. Пока нет уверенности в полной функциональной состоятельности таких матриксов, созданных клетками *in vitro*, а следовательно, их способности в полной мере стимулировать регенеративный потенциал миокарда.

Ткани провизорных органов, которые после рождения ребенка утрачивают свои функции, являются признанными источниками биоматериалов и имеют явные преимущества с точки зрения их доступности ввиду внеэмбрионального происхождения при сохранности фетального фенотипа [120]. Одним из таких органов является пуповина. Важной особенностью пуповины является то, что она не подвергалась возрастным изменениям, окислительному стрессу, негативному влиянию других факторов внешней среды [121]. Пуповина привлекает все большее внимание исследователей как источник получения клеток и внеклеточного матрикса для стимуляции регенеративных процессов [122–124], в том числе и в миокарде [125–127].

Работы в этом направлении проводятся в РФ, в частности сотрудниками Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Основываясь на способности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток вартонова студня пуповины дифференцироваться в широкий спектр соматических клеток [128, 129], они предположили, что децеллюляризованный внеклеточный матрикс вартонова студня будет содержать в своем составе молекулы, способствующие стимуляции эндогенных механизмов регенерации. Ими была разработана оригинальная отечественная технология получения такого продукта [130]. Изготовленный по этой технологии бесклеточный продукт показал *in vitro* свою способность заселяться клетками эксплантатов различных органов разных видов лабораторных животных, способствовать пролиферативной активности и сохранению жизнеспособности клеток *in vitro* и *ex vivo* [131]. В экспериментах на мелких и крупных лабораторных животных применение этого продукта было эффективно при заживлении ран кожи, ускоряя появление грануляций в ложе ран и их эпителизацию [121]. Продукт в инъекционной форме стимулировал восстановление внутрисуставно моделированных дефектов синовиального хряща бедренной кости кроликов [132]. Есть все основания ожидать, что децеллюляризованный матрикс вартонова студня пуповины человека, изготовленный по технологии сотрудников Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, окажется эффективным стимулятором регенеративных возможностей и сердечной мышцы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании анализа литературы можно заключить, что многие научные группы работают над исследованием возможности улучшения регенерации сердечной мышцы с помощью инъекций тканеинженерных изделий, изготовленных на основе децеллюляризованных матриксов биологических тканей.

Позитивный эффект достигается за счет стимуляции эндогенных механизмов регенерации. Имплантированный децеллюляризованный матрикс в процессе своей деградации выступает как хемоатрактант для иммунокомпетентных и прогениторных клеток реципиента. Продукты деградации создают специфическое микроокружение для мигрирующих клеток реципиента, определяя программу регенерации поврежденного участка миокарда.

Изменения внеклеточного матрикса кадаверных тканей, развивающиеся в процессе жизни донора и под влиянием заболеваний и старения, могут негативно влиять на его структуру, химический состав и способность стимулировать процесс регенерации.

Пуповина человека может быть наиболее перспективным аллогенным биоматериалом для изготовления высокорегенеративных бесклеточных медицинских изделий и лекарственных средств благодаря отсутствию воздействия на нее внешних и внутренних негативных влияний, этических запретов на ее использование и доступности. Наиболее важным свойством пуповины для использования ее в тканевой инженерии и регенеративной медицине является сохранность в ней факторов, оказывающих стимулирующий эффект на регенеративный потенциал различных тканей, в том числе и миокарда.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Гарганеева АА, Кужелева ЕА, Тукиш ОВ, Витт КН, Андреев СЛ, Муслимова ЭФ и др.* Возможности диагностики митохондриальной дисфункции при хронической сердечной недостаточности. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2024; 39 (3): 51–57. *Garganeeva AA, Kuzheleva EA, Tukish OV, Vitt KN, Andreev SL, Muslimova EF et al.* Possibilities of mitochondrial dysfunction diagnosis in chronic heart failure. *The siberian journal of clinical and experimental medicine.* 2024; 39 (3): 51–57. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-3-51-57.
2. *Pocock S, Wang D, Pfeffer MA, Yusuf S, McMurray JJ, Swedberg KB et al.* Predictors of mortality and morbidity in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2006; 27 (1): 65–75.
3. *Ганюков ВИ, Тарасов РС, Неверова ЮН, Кочергин НА, Барбараш ОЛ, Барбараш ЛС.* Отдаленные результаты различных подходов к реваскуляризации при остром коронарном синдроме без подъема сегмента ST и множественном коронарном атеросклерозе. *Терапевтический архив*. 2017; 89 (4): 29–34. *Ganyukov VI, Tarasov RS, Neverova YuN, Kochergin NA, Barbarash OL, Barbarash LS*. Long-term results of different approaches to revascularization in non-ST-segment elevation acute coronary syndrome and multiple coronary atherosclerosis. *Terapevticheskii arkhiv.* 2017; 89 (4): 29–34.
4. *Galli A, Lombardi F.* Postinfarct Left Ventricular Remodelling: A Prevailing Cause of Heart Failure. *Cardiology Research and Practice.* 2016; Article ID 2579832, 12 pages http://dx.doi.org/10.1155/2016/2579832.
5. *Беленков ЮН.* Пути развития отечественной кардиологии: итоги, планы, надежды. *АтмосферА. Кардиология*. 2002; 4: 2–4. *Belenkov YuN.* Ways of Development of Domestic Cardiology: Results, Plans, and Hopes. *AtmosferA. Cardiology.* 2002; 4: 2–4.
6. *Попов СВ, Рябов ВВ, Суслова ТЕ, Штатолкина МА, Веснина ЖВ, Крылов АЛ и др.* Фундаментальные и прикладные аспекты клеточных технологий в кардиологии и кардиохирургии. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2008; 28 (4): 5–15. *Popov SV, Ryabov VV, Suslova TE, Shtatolkina MA, Vesnina GV, Krylov AL et al*. Fundamental and applied aspects of sellular technoloies in cardiology and cardiosurgery. *Bulletin of the Siberian section of the Russian academy of medical sciences*. 2008: 28 (4): 5–15.
7. *Шумаков ВИ, Казаков ЭН, Онищенко НА, Гуреев СВ, Остроумов ЕН, Честухин ВВ и др.* Первый опыт клинического применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для восстановления сократительной функции миокарда. *Российский кардиологический журнал*. 2003; 43 (5): 42–50. *Shumakov VI, Kazakov EN, Onischenko NA, Gureev SV, Ostroumov EN, Chestuhin VV et al.* The first experience of clinical application autological mezenchimal bone marrow stem cells for rehabilitation of retractive myocardial function. *Russian journal of cardiology*. 2003; 43 (5): 42–50.
8. *Беленков ЮН, Агеев ФТ, Мареев ВЮ.* Стволовые клетки и их применение для регенерации миокарда. *Журнал сердечная недостаточность.* 2004; 4 (4): 168–173. *Belenkov YuN, Ageev FT, Mareev VYu.* Stem cells and their application for myocardial regeneration. *Russian heart failure journal.* 2004; 4 (4): 168–173.
9. *Бокерия ЛА, Бузиашвили ЮИ, Мацкеплишвили СТ, Камардинов ДХ.* Клеточная терапия ишемической болезни сердца; первый опыт использования стволовых клеток у больных с сердечной недостаточностью и острым инфарктом миокарда. *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».* 2004; 5 (2): 5–19. *Bokeria LA, Buziashvili YuI, Matskeplishvili ST, Kamardinov DKh.* Cellular therapy for coronary artery disease; the first experience of using stem cells in patients with heart failure and acute myocardial infarction. *Bulletin of the A.N. Bakulev national center for cardiovascular diseases. Cardiovascular diseases.* 2004; 5 (2): 5–19.
10. *Караськов АМ, Ларионов ПМ, Чернявский АМ, Субботин ДВ, Сергеевичев ДС, Фомичев АВ и др*. Морфофункциональная и молекулярно-генетическая оценка экспериментальных результатов вариантов непрямой реваскуляризации с использованием различных клеток костномозгового происхождения. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2007; 4: 75–81. *Karaskov AM, Larionov PM, Chernyavsky AM, Subbotin DV, Sergeevichev DS, Fomichev AV et al.* Morphofunctional and molecular-genetic assessment of the experimental results of indirect revascularization using various bone marrow-derived cells. *Circulation pathology and cardiac surgery*. 2007; 4: 75–81.
11. *Lockhart M, Wirrig E, Phelps A, Wessels A.* Extracellular matrix and heart development. *Birth Defects Res Part A – Clin Mol Teratol*. 2011; 91 (6): 535–550. https://doi.org/10.1002/bdra.20810.
12. *Badylak SF, Taylor D, Uygun K*. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds. *Annu Rev Biomed Eng*. 2011 Aug 15; 13: 27–53. doi: 10.1146/annurev-bioeng-071910-124743.

13. *Rozario T, DeSimone DW.* The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol.* 2010 May 1; 341 (1): 126–140. doi: 10.1016/j.ydbio.2009.10.026. Epub 2009 Oct 23.
14. *Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK.* Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016 Feb 1; 97: 4–27. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.001. Epub 2015 Nov 10.
15. *Yang H, Borg TK, Wang Z, Ma Z, Gao BZ.* Role of the basement membrane in regulation of cardiac electrical properties. *Ann Biomed Eng.* 2014 Jun; 42 (6): 1148–1157. doi: 10.1007/s10439-014-0992-x. Epub 2014 Feb 28.
16. *Borg TK, Caulfield JB.* The collagen matrix of the heart. *Fed Proc.* 1981 May 15; 40 (7): 2037–2041.
17. *Jugdutt BI.* Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough? *Circulation.* 2003 Sep 16; 108 (11): 1395–1403. doi: 10.1161/01.CIR.0000085658.98621.49.
18. *Пальцев МА, Иванов АА, Северин СЕ.* Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 2003; 288. *Paltsev MA, Ivanov AA, Severin SE.* Intercellular Interactions. M.: Medicine, 2003; 288.
19. *Barallobre-Barreiro J, Lynch M, Yin X, Mayr M.* Systems biology-opportunities and challenges: the application of proteomics to study the cardiovascular extracellular matrix. *Cardiovasc Res.* 2016 Dec; 112 (3): 626–636. doi: 10.1093/cvr/cvw206. Epub 2016 Sep 15.
20. *Lapidos KA, Kakkar R, McNally EM.* The dystrophin glycoprotein complex: signaling strength and integrity for the sarcolemma. *Circ Res.* 2004 Apr 30; 94 (8): 1023–1031. doi: 10.1161/01.RES.0000126574.61061.25.
21. *French KM, Boopathy AV, DeQuach JA, Chingozha L, Lu H, Christman KL, Davis ME.* A naturally derived cardiac extracellular matrix enhances cardiac progenitor cell behavior *in vitro*. *Acta Biomater.* 2012 Dec; 8 (12): 4357–4364. doi: 10.1016/j.actbio.2012.07.033. Epub 2012 Jul 27.
22. *Loftis MJ, Sexton D, Carver W.* Effects of collagen density on cardiac fibroblast behavior and gene expression. *J Cell Physiol.* 2003 Sep; 196 (3): 504–511. doi: 10.1002/jcp.10330.
23. *Jacot JG, Kita-Matsuo H, Wei KA, Chen HS, Omens JH, Mercola M et al.* Cardiac myocyte force development during differentiation and maturation. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Feb; 1188: 121–127. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05091.x.
24. *Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE.* Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell.* 2006 Aug 25; 126 (4): 677–689. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.044.
25. *Miskon A, Mahara A, Uyama H, Yamaoka T.* A suspension induction for myocardial differentiation of rat mesenchymal stem cells on various extracellular matrix proteins. *Tissue Eng Part C Methods.* 2010 Oct; 16 (5): 979–987. doi: 10.1089/ten.TEC.2009.0218.
26. *Jacot JG, Martin JC, Hunt DL.* Mechanobiology of cardiomyocyte development. *J Biomech.* 2010 Jan 5; 43 (1): 93–98. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.09.014. Epub 2009 Oct 12.
27. *Fomovsky GM, Holmes JW*. Evolution of scar structure, mechanics, and ventricular function after myocardial infarction in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010 Jan; 298 (1): H221–H228. doi: 10.1152/ajpheart.00495.2009. Epub 2009 Nov 6.
28. *Gjorevski N, Nelson CM.* Bidirectional extracellular matrix signaling during tissue morphogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009 Oct-Dec; 20 (5–6): 459–465. doi: 10.1016/j.cytogfr.2009.10.013. Epub 2009 Nov 6.
29. *Bayomy AF, Bauer M, Qiu Y, Liao R.* Regeneration in heart disease – Is ECM the key? *Life Sci.* 2012 Oct 29; 91 (17–18): 823–827. doi: 10.1016/j.lfs.2012.08.034. Epub 2012 Sep 12.
30. *Williams C, Quinn KP, Georgakoudi I, Black LD 3rd.* Young developmental age cardiac extracellular matrix promotes the expansion of neonatal cardiomyocytes *in vitro*. *Acta Biomater*. 2014 Jan; 10 (1): 194–204. doi: 10.1016/j.actbio.2013.08.037. Epub 2013 Sep 6.
31. *Williams C, Sullivan K, Black LD 3rd.* Partially Digested Adult Cardiac Extracellular Matrix Promotes Cardiomyocyte Proliferation *In Vitro*. *Adv Healthc Mater.* 2015 Jul 15; 4 (10): 1545–1554. doi: 10.1002/adhm.201500035. Epub 2015 May 18. PMID: 25988681; PMCID: PMC4504755.
32. *Frangogiannis NG.* Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. *Mol Aspects Med.* 2019 Feb; 65: 70–99. doi: 10.1016/j.mam.2018.07.001. Epub 2018 Aug 2. PMID: 30056242.
33. *De Souza RR.* Aging of myocardial collagen. *Biogerontology.* 2002; 3 (6): 325–335. doi: 10.1023/a:1021312027486. PMID: 12510171.
34. *Thomas DP, Cotter TA, Li X, McCormick RJ, Gosselin LE.* Exercise training attenuates aging-associated increases in collagen and collagen crosslinking of the left but not the right ventricle in the rat. *Eur J Appl Physiol.* 2001 Jul; 85 (1–2): 164–169. doi: 10.1007/s004210100447. PMID: 11513311.
35. *Frangogiannis NG.* Pathophysiology of Myocardial Infarction. *Compr Physiol.* 2015 Sep 20; 5 (4): 1841–1875. doi: 10.1002/cphy.c150006.
36. *Zile MR, Baicu CF, Ikonomidis JS, Stroud RE, Nietert PJ, Bradshaw AD et al.* Myocardial stiffness in patients with heart failure and a preserved ejection fraction: contributions of collagen and titin. *Circulation.* 2015 Apr 7; 131 (14): 1247–1259. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013215. Epub 2015 Jan 30.
37. *Frangogiannis NG.* The extracellular matrix in myocardial injury, repair, and remodeling. *J Clin Invest*. 2017 May 1; 127 (5): 1600–1612. doi: 10.1172/JCI87491. Epub 2017 May 1.
38. *Abbadi D, Laroumanie F, Bizou M, Pozzo J, Daviaud D, Delage C et al.* Local production of tenascin-C acts as a trigger for monocyte/macrophage recruitment that provokes cardiac dysfunction. *Cardiovasc Res*. 2018 Jan 1; 114 (1): 123–137. doi: 10.1093/cvr/cvx221.
39. *Christensen G, Herum KM, Lunde IG.* Sweet, yet underappreciated: Proteoglycans and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Matrix Biol*. 2019 Jan; 75–

76: 286–299. doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.001. Epub 2018 Jan 12.
40. *Engebretsen KV, Lunde IG, Strand ME, Waehre A, Sjaastad I, Marstein HS et al.* Lumican is increased in experimental and clinical heart failure, and its production by cardiac fibroblasts is induced by mechanical and proinflammatory stimuli. *FEBS J*. 2013 May; 280 (10): 2382–2398. doi: 10.1111/febs.12235. Epub 2013 Apr 2.
41. *Beetz N, Rommel C, Schnick T, Neumann E, Lother A, Monroy-Ordonez EB et al.* Ablation of biglycan attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis after left ventricular pressure overload. *J Mol Cell Cardiol*. 2016 Dec; 101: 145–155. doi: 10.1016/j.yjmcc.2016.10.011.
42. *Ali SR, Ranjbarvaziri S, Talkhabi M, Zhao P, Subat A, Hojjat A et al.* Developmental heterogeneity of cardiac fibroblasts does not predict pathological proliferation and activation. *Circ Res.* 2014 Sep 12; 115 (7): 625–635. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.303794.
43. *Xia Y, Zhang Y, Shi W, Liu S, Chen Y, Liang X et al.* Overexpression of megsin induces mesangial cell proliferation and excretion of type IV collagen in vitro. *Cell Immunol*. 2011; 271 (2): 413–417. doi: 10.1016/j.cellimm.2011.08.009.
44. *Lorenzen JM, Schauerte C, Hübner A, Kölling M, Martino F, Scherf K et al.* Osteopontin is indispensible for AP1-mediated angiotensin II-related miR-21 transcription during cardiac fibrosis. *Eur Heart J.* 2015 Aug 21; 36 (32): 2184–2196. doi: 10.1093/eurheartj/ehv109.
45. *Russo I, Cavalera M, Huang S, Su Y, Hanna A, Chen B et al.* Protective Effects of Activated Myofibroblasts in the Pressure-Overloaded Myocardium Are Mediated Through Smad-Dependent Activation of a Matrix-Preserving Program. *Circ Res*. 2019 Apr 12; 124 (8): 1214–1227. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.314438.
46. *Spinale FG, Janicki JS, Zile MR.* Membrane-associated matrix proteolysis and heart failure. *Circ Res.* 2013 Jan 4; 112 (1): 195–208. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.266882.
47. *Saxena A, Chen W, Su Y, Rai V, Uche OU, Li N et al.* IL-1 induces proinflammatory leukocyte infiltration and regulates fibroblast phenotype in the infarcted myocardium. *J Immunol.* 2013 Nov 1; 191 (9): 4838–4848. doi: 10.4049/jimmunol.1300725.
48. *Endo K, Takino T, Miyamori H, Kinsen H, Yoshizaki T, Furukawa M et al.* Cleavage of syndecan-1 by membrane type matrix metalloproteinase-1 stimulates cell migration. *J Biol Chem.* 2003 Oct 17; 278 (42): 40764–40770. doi: 10.1074/jbc.M306736200.
49. *González A, López B, Querejeta R, Zubillaga E, Echeverría T, Díez J.* Filling pressures and collagen metabolism in hypertensive patients with heart failure and normal ejection fraction. *Hypertension.* 2010 Jun; 55 (6): 1418–1424. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.149112.
50. *DeLeon-Pennell KY, Meschiari CA, Jung M, Lindsey ML.* Matrix Metalloproteinases in Myocardial Infarction and Heart Failure. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017; 147: 75–100. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.001.
51. *Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF.* Decellularization of tissues and organs. *Biomaterials.* 2006 Jul; 27 (19): 3675–3683. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.014.
52. *Yahalom-Ronen Y, Rajchman D, Sarig R, Geiger B, Tzahor E.* Reduced matrix rigidity promotes neonatal cardiomyocyte dedifferentiation, proliferation and clonal expansion. *Elife*. 2015 Aug 12; 4: e07455. doi: 10.7554/eLife.07455.
53. *Qiu Y, Bayomy AF, Gomez MV, Bauer M, Du P, Yang Y et al.* A role for matrix stiffness in the regulation of cardiac side population cell function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015 May 1; 308 (9): H990–H997. doi: 10.1152/ajpheart.00935.2014.
54. *Sullivan KE, Black LD.* The role of cardiac fibroblasts in extracellular matrix-mediated signaling during normal and pathological cardiac development. *J Biomech Eng.* 2013 Jul 1; 135 (7): 71001. doi: 10.1115/1.4024349.
55. *Sullivan KE, Quinn KP, Tang KM, Georgakoudi I, Black LD 3rd*. Extracellular matrix remodeling following myocardial infarction influences the therapeutic potential of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2014 Jan 24; 5 (1): 14. doi: 10.1186/scrt403.
56. *Dobaczewski M, Bujak M, Zymek P, Ren G, Entman ML, Frangogiannis NG.* Extracellular matrix remodeling in canine and mouse myocardial infarcts. *Cell Tissue Res.* 2006 Jun; 324 (3): 475–488. doi: 10.1007/s00441-005-0144-6.
57. *Cleutjens JP, Verluyten MJ, Smiths JF, Daemen MJ.* Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol.* 1995 Aug; 147 (2): 325–338.
58. *Kong P, Shinde AV, Su Y, Russo I, Chen B, Saxena A et al.* Opposing Actions of Fibroblast and Cardiomyocyte Smad3 Signaling in the Infarcted Myocardium. *Circulation.* 2018 Feb 13; 137 (7): 707–724. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029622.
59. *Fu X, Khalil H, Kanisicak O, Boyer JG, Vagnozzi RJ, Maliken BD et al.* Specialized fibroblast differentiated states underlie scar formation in the infarcted mouse heart. *J Clin Invest.* 2018 May 1; 128 (5): 2127–2143. doi: 10.1172/JCI98215.
60. *Chen B, Frangogiannis NG.* Macrophages in the Remodeling Failing Heart. *Circ Res*. 2016 Sep 16; 119 (7): 776–778. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309624.
61. *Sager HB, Hulsmans M, Lavine KJ, Moreira MB, Heidt T, Courties G et al.* Proliferation and Recruitment Contribute to Myocardial Macrophage Expansion in Chronic Heart Failure. *Circ Res.* 2016 Sep 16; 119 (7): 853–864. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309001.
62. *Chen JH, Simmons CA.* Cell-matrix interactions in the pathobiology of calcific aortic valve disease: critical roles for matricellular, matricrine, and matrix mechanics cues. *Circ Res.* 2011 Jun 10; 108 (12): 1510–1524. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.234237.
63. *Xia Y, Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, Chen W, Biernacka A, Li N et al.* Endogenous thrombospondin 1 protects the pressure-overloaded myocardium by modulating fibroblast phenotype and matrix metabolism. *Hypertension.* 2011 Nov; 58 (5): 902–911. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.175323.

64. *Frangogiannis NG.* Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. Physiol Rev. 2012 Apr; 92 (2): 635–688. doi: 10.1152/physrev.00008.2011.
65. *Schellings MW, Vanhoutte D, Swinnen M, Cleutjens JP, Debets J, van Leeuwen RE et al.* Absence of SPARC results in increased cardiac rupture and dysfunction after acute myocardial infarction. *J Exp Med.* 2009 Jan 16; 206 (1): 113–123. doi: 10.1084/jem.20081244.
66. *Hynes RO, Naba A.* Overview of the matrisome – an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012 Jan 1; 4 (1): a004903. doi: 10.1101/cshperspect.a004903.
67. *Valentin JE, Stewart-Akers AM, Gilbert TW, Badylak SF.* Macrophage participation in the degradation and remodeling of extracellular matrix scaffolds. *Tissue Eng Part A.* 2009 Jul; 15 (7): 1687–1694. doi: 10.1089/ten.tea.2008.0419.
68. *Lindsey ML, Iyer RP, Zamilpa R, Yabluchanskiy A, DeLeon-Pennell KY, Hall ME et al.* A Novel Collagen Matricryptin Reduces Left Ventricular Dilation Post-Myocardial Infarction by Promoting Scar Formation and Angiogenesis. *J Am Coll Cardiol.* 2015 Sep 22; 66 (12): 1364–1374. doi: 10.1016/j.jacc.2015.07.035.
69. *Ricard-Blum S, Salza R.* Matricryptins and matrikines: biologically active fragments of the extracellular matrix. *Exp Dermatol.* 2014 Jul; 23 (7): 457–463. doi: 10.1111/exd.12435.
70. *Agrawal V, Tottey S, Johnson SA, Freund JM, Siu BF, Badylak SF.* Recruitment of progenitor cells by an extracellular matrix cryptic peptide in a mouse model of digit amputation. *Tissue Eng Part A.* 2011 Oct; 17 (19–20): 2435–2443. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0036.
71. *Carey LE, Dearth CL, Johnson SA, Londono R, Medberry CJ, Daly KA et al. In vivo* degradation of 14C-labeled porcine dermis biologic scaffold. *Biomaterials.* 2014 Sep; 35 (29): 8297–8304. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.06.015.
72. *Dziki JL, Sicari BM, Wolf MT, Cramer MC, Badylak SF.* Immunomodulation and Mobilization of Progenitor Cells by Extracellular Matrix Bioscaffolds for Volumetric Muscle Loss Treatment. *Tissue Eng Part A.* 2016 Oct; 22 (19–20): 1129–1139. doi: 10.1089/ten.TEA.2016.0340.
73. *Keane TJ, Londono R, Turner NJ, Badylak SF.* Consequences of ineffective decellularization of biologic scaffolds on the host response. *Biomaterials.* 2012 Feb; 33 (6): 1771–1781. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.054.
74. *Sicari BM, Dziki JL, Siu BF, Medberry CJ, Dearth CL, Badylak SF.* The promotion of a constructive macrophage phenotype by solubilized extracellular matrix. *Biomaterials.* 2014 Oct; 35 (30): 8605–8612. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.06.060.
75. *Brown BN, Londono R, Tottey S, Zhang L, Kukla KA, Wolf MT et al.* Macrophage phenotype as a predictor of constructive remodeling following the implantation of biologically derived surgical mesh materials. *Acta Biomater.* 2012 Mar; 8 (3): 978–987. doi: 10.1016/j.actbio.2011.11.031.
76. *Reing JE, Zhang L, Myers-Irvin J, Cordero KE, Freytes DO, Heber-Katz E et al.* Degradation products of extracellular matrix affect cell migration and proliferation. *Tissue Eng Part A.* 2009 Mar; 15 (3): 605–614. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0425.
77. *Vorotnikova E, McIntosh D, Dewilde A, Zhang J, Reing JE, Zhang L et al.* Extracellular matrix-derived products modulate endothelial and progenitor cell migration and proliferation *in vitro* and stimulate regenerative healing *in vivo*. *Matrix Biol.* 2010 Oct; 29 (8): 690–700. doi: 10.1016/j.matbio.2010.08.007.
78. *Liu W, Zhang X, Zhao M, Zhang X, Chi J, Liu Y et al.* Activation in M1 but not M2 Macrophages Contributes to Cardiac Remodeling after Myocardial Infarction in Rats: a Critical Role of the Calcium Sensing Receptor/NRLP3 Inflammasome. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 35 (6): 2483–2500. doi: 10.1159/000374048.
79. *Dziki JL, Giglio RM, Sicari BM, Wang DS, Gandhi RM, Londono R et al.* The Effect of Mechanical Loading Upon Extracellular Matrix Bioscaffold-Mediated Skeletal Muscle Remodeling. *Tissue Eng Part A.* 2018 Jan; 24 (1–2): 34–46. doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0011.
80. *Sadtler K, Estrellas K, Allen BW, Wolf MT, Fan H, Tam AJ et al.* Developing a pro-regenerative biomaterial scaffold microenvironment requires T helper 2 cells. *Science.* 2016 Apr 15; 352 (6283): 366–370. doi: 10.1126/science.aad9272.
81. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Гареев ЕМ, Афанасьев СА, Кондратьева ДС, Попов СВ.* Макрофаги как регуляторы гомеостаза миокарда после его ишемического повреждения в условиях применения аллогенного биоматериала. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 67–75. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Gareev EM, Afanasiev SA, Condratyeva DS, Popov SV.* Macrophages as homeostatic regulators in the ischemically damaged myocardium after use of allogenic biomaterial. *Bulletin of Siberian medicine*. 2020; 19 (1): 67–75. doi: 10.20538/1682-0363-2020-1-67-75.
82. *Jiang H, Sun X, Liu J, Fang L, Liang Y, Zhou J et al.* Decellularized Extracellular Matrix Scaffold Loaded with Regulatory T Cell-Conditioned Medium Induces M2 Macrophage Polarization. *Biomater Res*. 2025 Apr 18; 29: 0196. doi: 10.34133/bmr.0196.
83. *Wynn TA, Vannella KM.* Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity.* 2016 Mar 15; 44 (3): 450–462. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.015.
84. *Van den Bosch TP, Caliskan K, Kraaij MD, Constantinescu AA, Manintveld OC, Leenen PJ et al.* CD16+ Monocytes and Skewed Macrophage Polarization toward M2 Type Hallmark Heart Transplant Acute Cellular Rejection. *Front Immunol*. 2017 Mar 24; 8: 346. doi: 10.3389/fimmu.2017.00346.
85. *Kaplan A, Altara R, Eid A, Booz GW, Zouein FA.* Update on the Protective Role of Regulatory T Cells in Myocardial Infarction: A Promising Therapy to Repair the Heart. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2016 Dec; 68 (6): 401–413. doi: 10.1097/FJC.0000000000000436.
86. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Гареев ЕМ, Попов СВ, Афанасьев СА, Кондратьева ДС.* Экспериментальный кардиомиогенез в условиях применения раз-

личных доз аллогенного биоматериала. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018; 165 (6): 753–756. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Gareev EM, Popov SV, Afanas'ev SA, Kondrat'eva DS.* Experimental cardiomyogenesis under conditions of administration of different doses of the allogeneic biomaterial. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018: 165 (6): 790–792.

87. *Мулдашев ЭР, Лебедева АИ, Муслимов СА, Попов СВ, Афанасьев СА, Кондратьева ДС.* Аллогенный биоматериал – индуктор аутогенных стволовых и коммитированных клеток миокарда в ишемически поврежденном миокарде. *Практическая медицина*. 2019; 1: 89–94. *Muldashev ER, Lebedeva AI, Muslimov SA, Popov SV, Afanasyev SA, Kondratieva DS.* Allogenic biomaterial – an inducer of autologous stem and committed myocardial cells in ischemic damaged myocardium. *Practical medicine*. 2019; 1: 89–94.
88. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Гареев ЕМ, Попов СВ, Афанасьев СА.* Стимуляция аутологичных прогениторных и коммитированных клеток в ишемически поврежденном миокарде. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23 (11): 123–129. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Gareev EM, Popov SV, Afanasiev SA.* Stimulation of autologous progenitorial and committed cells in ischemically damaged myocardium. *Russian journal of cardiology*. 2018; 23 (11): 123–129. doi: 10.15829/1560-4071-2018-11-123-129.
89. *Шахов ВП, Афанасьев СА, Попов СВ.* Возможная роль циркулирующих мультипотентных стволовых клеток в развитии атеросклероза. *Кардиология.* 2005; 8: 51–52. *Shakhov VP, Afanasiev SA, Popov SV.* Possibble role of circulating multipotent stem cells in development of atherosclerosis. *Kardiologiia.* 2005; 8: 51–52.
90. *Spang MT, Middleton R, Diaz M, Hunter J, Mesfin J, Banka A et al.* Intravascularly infused extracellular matrix as a biomaterial for targeting and treating inflamed tissues. *Nat Biomed Eng.* 2023 Feb; 7 (2): 94–109. doi: 10.1038/s41551-022-00964-5.
91. *Chen A, Mesfin JM, Gianneschi NC, Christman KL.* Intravascularly Deliverable Biomaterial Platforms for Tissue Repair and Regeneration Post-Myocardial Infarction. *Adv Mater*. 2024 Oct; 36 (43): e2300603. doi: 10.1002/adma.202300603.
92. *Mesfin JM, Ninh VK, Diaz MD, Nguyen MB, Chen A, Wang RM et al*. Uncovering the Regional and Cell Specific Bioactivity of Injectable Extracellular Matrix Biomaterials in Myocardial Infarction through Spatial and Single Nucleus Transcriptomics. *bioRxiv [Preprint]*. 2025 Jun 27: 2025.06.25.661525. doi: 10.1101/2025.06.25.661525. Update in: *Nat Commun*. 2025 Nov 24; 16 (1): 10387. doi: 10.1038/s41467-025-65351-5.
93. *Fosgerau K, Hoffmann T.* Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discov Today*. 2015 Jan; 20 (1): 122–128. doi: 10.1016/j.drudis.2014.10.003.
94. *Daley MC, Fenn SL, Black LD 3rd*. Applications of Cardiac Extracellular Matrix in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Adv Exp Med Biol.* 2018; 1098: 59–83. doi: 10.1007/978-3-319-97421-7.
95. *Афанасьев СА, Кондратьева ДС, Лебедева АИ, Муслимов СА, Попов СВ.* Функциональное состояние миокарда после использования аллогенного бесклеточного материала для стимуляции его регенеративных возможностей при экспериментальном инфаркте. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 23 (3): 71–75. *Afanasiev SA, Kondratieva DS, Lebedeva AI, Muslimov SA, Popov SV.* Functional state of myocardium after application of a non-cellular allogenic material for stimulation of regeneration capacity in experimental infarction. *Russian journal of cardiology*. 2018; 23 (3): 71–75. doi: 10.15829/1560-4071-2018-3-71-75.
96. *Афанасьев СА, Кондратьева ДС, Усов ВЮ, Лебедева АИ, Муслимов СА, Попов СВ.* Предупреждение постинфарктного ремоделирования сердца после использования бесклеточного биоматериала в эксперименте. *Российский кардиологический журнал*. 2019; 24 (7): 63–67. *Afanasiev SA, Kondratyeva DS, Usov VYu, Lebedeva AI, Muslimov SA, Popov SV.* Prevention of post-infarction cardiac remodeling after using the non-cellular biomaterial in the experiment. *Russian journal of cardiology*. 2019; 24 (7): 63–67. doi: 10.15829/1560-4071-2019-7-63-67.
97. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Гареев ЕМ, Попов СВ, Афанасьев СА, Кондратьева ДС.* Экспрессия металлопротеиназ и их ингибиторов в ишемизированном миокарде после применения аллогенного биоматериала. *Российский кардиологический журнал.* 2018; 23 (7): 73–79. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Gareev EM, Popov SV, Afanasiev SA, Kondratieva DS*. Metalloproteases and inhibitors expression in myocardium under ischemic conditions after allogenic biomaterial introduction. *Russian journal of cardiology*. 2018; 23 (7): 73–79. doi: 10.15829/1560-4071-2018-7-73-79.
98. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Мусина ЛА, Гареев ЕМ, Кадыров РЗ, Кондратьева ДС и др.* Эффект интрамиокардиального введения аллогенного биоматериала на уровень ангиогенеза и ремоделирования постишемического рубца у крыс. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2020; 3: 156–166. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Musina LA, Gareev EM, Kadyrov RZ, Condratyeva DS et al.* Effect of intramyocardial allogenic biomaterial injection on angiogenesis and postischemic scar remodeling in rats. *Russian journal of transplantology and artificial organs.* 2020; 3: 156–166. doi: 10.15825/1995-1191-2020-3-156-166.
99. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Шангина ОР, Афанасьев СА, Кондратьева ДС, Попов СВ.* Влияние аллогенного биоматериала на ремоделирование рубца в подострой стадии инфаркта миокарда. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* 2019; 5: 166. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Shangina OR, Afanasiev SA, Kondratyeva DS, Popov SV.* Effect of allogeneic biomaterial on scar remodeling in the subacute stage of myocardial infarction. *Russian journal of transplantology and artificial organs*. 2019; 5: 166.

100. *Лебедева АИ, Афанасьев СА, Кондратьева ДС, Гареев ЕМ, Муслимов СА, Попов СВ.* Коррекция рубцовых изменений инфаркта миокарда в подострой стадии при применении диспергированного аллогенного биоматериала. *Российский кардиологический журнал*. 2019; 24 (7): 68–74. *Lebedeva AI, Afanasiev SA, Kondratyeva DS, Gareev EM, Muslimov SA, Popov SV.* Correction of cicatricial changes in subacute stage of myocardial infarction with using of dispersed allogenic biomaterial. *Russian journal of cardiology*. 2019; 24 (7): 68–74. doi: 10.15829/1560-4071-2019-7-68-74.
101. *Kawecki M, Łabuś W, Klama-Baryla A, Kitala D, Kraut M, Glik J et al.* A review of decellurization methods caused by an urgent need for quality control of cell-free extracellular matrix' scaffolds and their role in regenerative medicine. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018 Feb; 106 (2): 909–923. doi: 10.1002/jbm.b.33865.
102. *Jiang Y, Li R, Han C, Huang L.* Extracellular matrix grafts: From preparation to application (Review). *Int J Mol Med*. 2021 Feb; 47 (2): 463–474. doi: 10.3892/ijmm.2020.4818.
103. *Keane TJ, Badylak SF.* The host response to allogeneic and xenogeneic biological scaffold materials. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015 May; 9 (5): 504–511. doi: 10.1002/term.1874.
104. *Cramer MC, Badylak SF.* Extracellular Matrix-Based Biomaterials and Their Influence Upon Cell Behavior. *Ann Biomed Eng.* 2020 Jul; 48 (7): 2132–2153. doi: 10.1007/s10439-019-02408-9.
105. *Dziki JL, Badylak SF.* Extracellular Matrix for Myocardial Repair. *Adv Exp Med Biol.* 2018; 1098: 151–171. doi: 10.1007/978-3-319-97421-7.
106. *Saldin LT, Cramer MC, Velankar SS, White LJ, Badylak SF*. Extracellular matrix hydrogels from decellularized tissues: Structure and function. *Acta Biomater*. 2017 Feb; 49: 1–15. doi: 10.1016/j.actbio.2016.11.068. Epub 2016 Dec 1. PMID: 27915024; PMCID: PMC5253110.
107. *Seif-Naraghi SB, Singelyn JM, Salvatore MA, Osborn KG, Wang JJ, Sampat U et al.* Safety and efficacy of an injectable extracellular matrix hydrogel for treating myocardial infarction. *Sci Transl Med.* 2013 Feb 20; 5 (173): 173ra25. doi: 10.1126/scitranslmed.3005503.
108. *Sonnenberg SB, Rane AA, Liu CJ, Rao N, Agmon G, Suarez S et al.* Delivery of an engineered HGF fragment in an extracellular matrix-derived hydrogel prevents negative LV remodeling post-myocardial infarction. *Biomaterials.* 2015 Mar; 45: 56–63. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.12.021.
109. *Akbarzadeh A, Sabetkish S, Kajbafzadeh AM.* Cardiac Extracellular Matrix as a Platform for Heart Organ Bioengineering: Design and Development of Tissue-Engineered Heart. *Adv Exp Med Biol.* 2021; 1345: 47–59. doi: 10.1007/978-3-030-82735-9.
110. *Wang Z, Long DW, Huang Y, Chen WCW, Kim K, Wang Y.* Decellularized neonatal cardiac extracellular matrix prevents widespread ventricular remodeling in adult mammals after myocardial infarction. *Acta Biomater*. 2019 Mar 15; 87: 140–151. doi: 10.1016/j.actbio.2019.01.062.
111. *Belviso I, Angelini F, Di Meglio F, Picchio V, Sacco AM, Nocella C et al.* The Microenvironment of Decellularized Extracellular Matrix from Heart Failure Myocardium Alters the Balance between Angiogenic and Fibrotic Signals from Stromal Primitive Cells. *Int J Mol Sci.* 2020 Oct 24; 21 (21): 7903. doi: 10.3390/ijms21217903.
112. *Liguori GR, Liguori TTA, de Moraes SR, Sinkunas V, Terlizzi V, van Dongen JA et al.* Molecular and Biomechanical Clues From Cardiac Tissue Decellularized Extracellular Matrix Drive Stromal Cell Plasticity. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020 May 29; 8: 520. doi: 10.3389/fbioe.2020.00520.
113. Федеральный Закон № 180 РФ (ФЗ № 180) «О биомедицинских клеточных продуктах». 2017; пп. 33 и 35. Federal Law № 180 of the Russian Federation (FL № 180) «On Biomedical Cell Products». 2017; paragraphs 33 and 35.
114. *Ахмедов ШД, Афанасьев СА, Дьякова МЛ, Фатхутдинов ТХ, Кактурский ЛВ.* Использование бесклеточного матрикса для формирования новых кровеносных сосудов и сердца методом тканевой инженерии. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2009; 4 (2): 32–39. *Akhmedov ShD, Afanasyev SA, Dyakova ML, Fatkhutdinov TKh, Kaktursky LV.* The use of a cell-free matrix for the formation of new blood vessels and the heart by tissue engineering. *Cellular Transplantation and Tissue Engineering.* 2009; 4 (2): 32–39.
115. *Akbarzadeh A, Sobhani S, Soltani Khaboushan A, Kajbafzadeh AM.* Whole-Heart Tissue Engineering and Cardiac Patches: Challenges and Promises. *Bioengineering (Basel).* 2023 Jan 12; 10 (1): 106. doi: 10.3390/bioengineering10010106.
116. *Franco-Barraza J, Beacham DA, Amatangelo MD, Cukierman E.* Preparation of Extracellular Matrices Produced by Cultured and Primary Fibroblasts. *Curr Protoc Cell Biol.* 2016 Jun 1; 71: 10.9.1–10.9.34. doi: 10.1002/cpcb.2.
117. *Parmaksiz M, Elçin AE, Elçin YM.* Decellularized Cell Culture ECMs Act as Cell Differentiation Inducers. *Stem Cell Rev Rep.* 2020 Jun; 16 (3): 569–584. doi: 10.1007/s12015-020-09963-y.
118. *Schaart JM, Kea-Te Lindert M, Roverts R, Nijhuis WH, Sommerdijk N, Akiva A.* Cell-induced collagen alignment in a 3D *in vitro* culture during extracellular matrix production. *J Struct Biol.* 2024 Jun; 216 (2): 108096. doi: 10.1016/j.jsb.2024.108096.
119. *Phothichailert S, Samoun S, Fournier BP, Isaac J, Nelwan SC, Osathanon T et al.* MSCs-Derived Decellularised Matrix: Cellular Responses and Regenerative Dentistry. *Int Dent J.* 2024 Jun; 74 (3): 403–417. doi: 10.1016/j.identj.2024.02.011.
120. *Muthuchamy M, Subramanian K, Padhiar C, Dhanraj AK, Desireddy S.* Feasibility study on intact human umbilical cord Wharton's jelly as a scaffold for human autologous chondrocyte: In-vitro study. *Int*

J Artif Organs. 2022 Nov; 45 (11): 936–944. doi: 10.1177/03913988221118102.

121. *Кондратенко АА, Товпеко ДВ, Волов ДА, Калюжная ЛИ, Чернов ВЕ, Глушаков РИ и др.* Децеллюляризированная пуповина как основа для заживления ран на всю толщину. *Биомиметика.* 2024; 9 (7): 405–424. *Kondratenko AA, Tovpeko DV, Volov DA, Kalyuzhnaya LI, ChernovVE, Glushakov RI et al.* Decellularized Umbilical Cord as a Scaffold to Support Healing of Full-Thickness Wounds. *Biomimetics.* 2024; 9 (7): 405–424. doi: 10.3390/biomimetics9070405.
122. *Li Y, Zhang Y, Zhang G.* Comparative Analysis of Decellularization Methods for the Production of Decellularized Umbilical Cord Matrix. *Curr Issues Mol Biol.* 2024 Jul 19; 46 (7): 7686–7701. doi: 10.3390/cimb46070455.
123. *Abbaszadeh H, Ghorbani F, Derakhshani M, Movassaghpour AA, Yousefi M, Talebi M et al.* Regenerative potential of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: A new horizon of stem cell therapy. *J Cell Physiol.* 2020 Dec; 235 (12): 9230–9240. doi: 10.1002/jcp.29810.
124. *Aratikatla A, Maffulli N, Gupta M, Potti IA, Potty AG, Gupta A.* Wharton's jelly and osteoarthritis of the knee. *Br Med Bull.* 2024 Mar 13; 149 (1): 13–31. doi: 10.1093/bmb/ldad030.
125. *Chao NN, Li JL, Ding W, Qin TW, Zhang Y, Xie HQ et al.* Fabrication and characterization of a pro-angiogenic hydrogel derived from the human placenta. *Biomater Sci.* 2022 Apr 12; 10 (8): 2062–2075. doi: 10.1039/d1bm01891d.
126. *Francis MP, Breathwaite E, Bulysheva AA, Varghese F, Rodriguez RU, Dutta S et al.* Human placenta hydrogel reduces scarring in a rat model of cardiac ischemia and enhances cardiomyocyte and stem cell cultures. *Acta Biomater.* 2017 Apr 1; 52: 92–104. doi: 10.1016/j.actbio.2016.12.027.
127. *Gamba LK, Gamba LK, da Costa C, Takejima AL, Simeoni RB, Rossa ICM et al.* Wharton's Jelly Bioscaffolds Improve Cardiac Repair with Bone Marrow Mononuclear Stem Cells in Rats. *Journal of Functional Biomaterials*. 2025; 16 (5): 175. https://doi.org/10.3390/jfb16050175.
128. *Wang HS, Hung SC, Peng ST, Huang CC, Wei HM, Guo YJ et al.* Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells.* 2004; 22 (7): 1330–1337. doi: 10.1634/stemcells.2004-0013.
129. *Nishiyama N, Miyoshi S, Hida N, Uyama T, Okamoto K, Ikegami Y et al.* The significant cardiomyogenic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells *in vitro*. *Stem cells*. 2007; 25: 2017–2024. doi: 10.1634/ stemcells.2006-0662.
130. *Калюжная ЛИ, Чернов ВЕ, Фрумкина АС, Чеботарев СВ, Земляной ДА, Товпеко ДВ и др.* Изготовление тканеинженерного бесклеточного матрикса пуповины человека. *Вестник российской военно-медицинской академии*. 2020; 1 (69): 124–130. *Kalyuzhnaya LI, Chernov VE, Frumkina AS, Chebotarev SV, Zemlyanoy DA, Tovpeko DV et al.* Fabrication of human wharton's jelly extra cellular matrix for tissue engineering. *Bulletin of the russian military medical academy*. 2020; 1 (69): 124–130. doi: 10.17816/brmma25980.
131. *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; 16 (3): 72–79. *Kalyuzhnaya LI, Sokolova MO, Chernov VE, Zemlyanoy DA, Chebotarev SV, Chalisova NI et al.* The effect of the cell-free matrix of the human umbilical cord on the growth dynamics and viability of cultured human and animal cells *ex vivo*. *Genes & Cells*. 2021; 16 (3): 72–79. doi: 10.23868/202110010.
132. *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 (30)): 119–125. *Chebotarev SV, Kalyuzhnaya LI, Khominets VV, Chernov VE, Frumkina AS, Zemlyanoy DA et al.* Regenerative effects of human umbilical cord hydrogel in the treatment of articular cartilage injuries. *Clinical and experimental surgery. Petrovsky journal.* 2020; 8 (4 (30)): 119–125. doi: 10.33029/2308-1198-2020-8-4-119-125.

Статья поступила в редакцию 13.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 13.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-202-207

ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ, КОРРЕЛИРУЮЩИЕ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ТАКРОЛИМУСА, У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

С.Л. Зыблев[1], А.Е. Силин[1], С.В. Зыблева[1], В.Н. Мартинков[1], А.А. Силина[1], Б.О. Кабешев[1], А.В. Величко[1], А.С. Князюк[2], З.А. Дундаров[2]

[1] ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь

[2] УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

Цель: проанализировать клинико-лабораторные показатели для определения специфических маркеров, отражающих фармакокинетику такролимуса. **Материалы и методы.** Сформирована группа исследования из 35 пациентов, которым выполнена трансплантация почки, из которых 13 женщин (37,1%) и 22 мужчины (62,9%), медиана возраста этих пациентов составила 48 лет [37; 57]. Пациенты получали индукционную иммуносупрессивную терапию (моноклональные анти-CD25-антитела), ингибиторы кальциневрина (такролимус) в сочетании с антипролиферативными лекарственными средствами (микофенолат или азатиоприн) и кортикостероиды. Изучили концентрацию такролимуса на 3-и, 7, 14 и 30-е сутки после трансплантации почки. Оценивали показатели общего анализа крови, биохимических показателей крови (креатинин, мочевина, ферритин, трансферрин, СРБ, натрий, калий, хлор, кальций, общий белок, общий билирубин) перед операцией, на 1-е, 3-и, 7, 14 и 30-е сутки после трансплантации почки. **Результаты.** Выявлена значимая положительная корреляционная связь уровня C_0 такролимуса на 3-и и 7-е сутки с показателем общего билирубина у реципиентов на 1-е сутки ($R = 0,49$, $p = 0,007$ и $R = 0,48$, $p = 0,009$ соответственно). Также отмечена положительная корреляционная связь концентрации C_0 такролимуса на 3-и сутки с уровнем общего билирубина на эти же сутки ($R = 0,52$, $p = 0,006$). Выявлена отрицательная корреляционная связь уровня общего кальция на 3-и сутки после операции с концентрацией C_0 такролимуса на 7-е и 14-е сутки ($R = –0,6$, $p = 0,031$ и $R = –0,56$, $p = 0,046$ соответственно). **Заключение.** Выявлена прямая корреляционная связь концентрации общего билирубина на 1-е сутки после операции и уровня такролимуса на 3-и и 7-е сутки после трансплантации почки. А низкая концентрация общего кальция на 3-и сутки ассоциирована с высоким уровнем такролимуса на 7-е и 14-е сутки после операции.

Ключевые слова: трансплантация почки, концентрация такролимуса, лабораторные биомаркеры, ингибиторы кальциневрина, общий билирубин, кальций.

LABORATORY MARKERS ASSOCIATED WITH TACROLIMUS PHARMACOKINETICS IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS

S.L. Zyblev[1], A.E. Silin[1], S.V. Zybleva[1], V.N. Martinkov[1], A.A. Silina[1], B.O. Kabeshev[1], A.V. Velichko[1], A.S. Knyazyuk[2], Z.A. Dundarov[2]

[1] Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

[2] Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Objective: to evaluate clinical and laboratory parameters in order to identify markers that reflect the pharmacokinetics of tacrolimus (Tac). **Materials and methods.** The study included 35 kidney transplant (KT) recipients, comprising 13 women (37.1%) and 22 men (62.9%), with a median age of 48 years [37–57]. All patients received induction immunosuppressive therapy with monoclonal anti-CD25 antibodies, followed by a maintenance regimen consisting of the calcineurin inhibitor Tac in combination with antiproliferative agents (mycophenolate or azathioprine) and corticosteroids. Tac levels were measured on postoperative days 3, 7, 14, and 30. Complete

Для корреспонденции: Зыблев Сергей Леонидович. Адрес: Республика Беларусь, 246040, Гомель, ул. Ильича, 290. Тел. +375 029 109-21-09. E-mail: S.zyblev@yandex.by

Corresponding author: Sergey Zyblev. Address: 290, Ilyicha str., Gomel, 246040, Republic of Belarus. Phone: +375 029 109-21-09. E-mail: S.zyblev@yandex.by

blood count and biochemical parameters, including creatinine, urea, ferritin, transferrin, C-reactive protein (CRP), sodium, potassium, chloride, calcium, total protein, and total bilirubin, were assessed preoperatively and on days 1, 3, 7, 14, and 30 following KT. **Results.** A statistically significant positive correlation was observed between Tac trough (C_0) levels on postoperative days 3 and 7 and total bilirubin levels on day 1 ($R = 0.49$, $p = 0.007$; $R = 0.48$, $p = 0.009$, respectively). In addition, Tac C_0 level on day 3 showed a positive correlation with total bilirubin levels measured on the same day ($R = 0.52$, $p = 0.006$). Conversely, total calcium levels on day 3 were negatively correlated with Tac C_0 levels on days 7 and 14 ($R = –0.60$, $p = 0.031$; $R = –0.56$, $p = 0.046$, respectively). **Conclusion.** Total bilirubin levels on postoperative day 1 are directly associated with Tac levels on days 3 and 7 following KT. Additionally, lower total calcium levels on day 3 are associated with higher Tac concentrations on days 7 and 14.

Keywords: kidney transplantation, tacrolimus level, laboratory biomarkers, calcineurin inhibitors, total bilirubin, calcium.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки является методом лечения для многих пациентов с хронической болезнью почек. Благодаря разработке новых иммуносупрессивных лекарственных средств, более эффективной противомикробной профилактике и усовершенствованию хирургических методов результаты трансплантации почки за последние несколько десятилетий значительно улучшились, однако отказ почечного трансплантата со временем все еще остается серьезной проблемой [1, 2].

Рутинный посттрансплантационный мониторинг состоит из измерения уровня креатинина и уровней иммунодепрессантов в сыворотке. В то же время даже строгое соблюдение рекомендуемых концентраций лекарственных средств не предотвращает ни чрезмерной иммуносупрессии, приводящей к инфекциям и злокачественным новообразованиям, ни недостаточной иммуносупрессии, связанной с повышенным риском острого отторжения или хронического иммунного повреждения трансплантата [3].

Ключевая проблема, лежащая в основе долгосрочной потери трансплантата, связана с иммунным отторжением трансплантированной почки, которое частично смягчается иммуносупрессивной терапией [4]. При этом следует учитывать, что иммунодепрессанты имеют серьезные побочные эффекты, включая нейротоксичность, повышенный риск развития оппортунистических инфекций, развития диабета, некоторых видов рака и даже прямую нефротоксичность [5].

Применение ингибиторов кальциневрина сопряжено с эффектами острой нефротоксичности, которая реализуется через острое нарушение функции почечных сосудов, прежде всего артериол, опосредованное повышением уровней ряда сосудосуживающих факторов и снижением активности сосудорасширяющих факторов, а также хронической нефротоксичности в виде интерстициального фиброза с атрофией канальцев, клубочкового капсулярного фиброза, гломерулосклероза и др. [6, 7].

Таким образом, ведение реципиента трансплантата включает в себя достижение оптимальной концентрации иммуносупрессантов, достаточной для адекватной иммуносупрессии, но не чрезмерно высокой для минимизации риска побочных эффектов [8].

Среди иммунодепрессантов, относящихся к ингибиторам кальциневрина, при трансплантации органов наиболее часто применяются такролимус и циклоспорин [9].

Такролимус – самый распространенный иммуносупрессивный препарат, применяемый в настоящее время. Такролимус имеет узкий терапевтический диапазон и требует регулярного терапевтического контроля. Персонализация дозирования такролимуса особенно важна для профилактики развития нефротоксичности у пациентов на диализе, которым предстоит трансплантация почки, и в первые дни после трансплантации [10]. Для достижения оптимального уровня такролимуса в крови при расчете дозы препарата учитывают ряд параметров, таких как возраст, масса тела, прием других лекарственных средств и др. При этом в ряде случаев у различных пациентов со сходными параметрами в процессе мониторинга наблюдаются существенные различия в уровнях препарата в крови. Это свидетельствует о наличии факторов, которые в настоящее время не учитываются при подборе дозы препарата [11–13].

Таким образом, целый ряд факторов, таких как возраст, концентрация альбумина в плазме, площадь поверхности тела, комедикация, этническая принадлежность, гематокрит, уровни сывороточных цитокинов и генетический фактор, совместно влияют на фармакокинетику такролимуса. В этой связи изучение взаимосвязи ряда показателей с фармакокинетикой иммуносупрессивных препаратов, установление наиболее значимых клинико-лабораторных маркеров и разработка на их основе метода определения оптимальной дозировки такролимуса являются важными для снижения вероятности потери трансплантата и уменьшения побочных эффектов и осложнений терапии у реципиентов почечного трансплантата.

Цель: проанализировать клинико-лабораторные показатели для определения специфических маркеров, отражающих фармакокинетику такролимуса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сформирована группа исследования из числа пациентов с хронической болезнью почек (ХБП), которым была выполнена пересадка почки в хирургическом отделении (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии) ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ». После подписания формы информированного согласия в исследование включено 35 пациентов, среди которых 13 женщин (37,1%) и 22 мужчины (62,9%), медиана возраста этих пациентов составила 48 лет [37; 57].

Критериями включения в группу исследования являлись: первичная почечная трансплантация, индукционная терапия моноклональными анти-CD25-антителами, трехкомпонентная иммуносупрессивная терапия. Отрицательный результат прямой перекрестной пробы (cross-match) наблюдался в 100% случаев. Все пациенты получали иммуносупрессивную терапию согласно клиническим протоколам трансплантации почки (Приложение 4 к клиническому протоколу «Трансплантация почки (взрослое население)» от 13.02.2023 № 13).

Пациенты из обследуемой группы получали индукционную иммуносупрессивную терапию (моноклональные анти-CD25-антитела), ингибиторы кальциневрина (такролимус) в сочетании с антипролиферативными лекарственными средствами (микофенолатом или азатиоприном), кортикостероиды. При этом такролимус назначался в дозе 0,1 мг/кг в сутки. Всем пациентом суточную дозу такролимуса назначали в два приема.

Всем пациентам из группы исследования проведено динамическое определение концентрации такролимуса натощак (C_0) на 3-и, 7, 14 и 30-е сутки после трансплантации почки. Оценивали показатели общего анализа крови, биохимических показателей крови (креатинин, мочевина, ферритин, трансферрин, СРБ, натрий, калий, хлор, кальций, общий белок, общий билирубин) перед операцией, на 1-е, 3-и, 7, 14 и 30-е сутки после трансплантации почки.

Показатели общего анализа крови определяли с помощью многопараметрового автоматического гематологического анализатора CELL-DYN Sapphire (Abbott Laboratories, США). Биохимические показатели определяли в сыворотке крови с помощью биохимического анализатора Architect c8000 (Abbott Laboratories, США). Концентрацию такролимуса определяли в цельной крови методом хемилюминесцентной детекции с помощью иммунохимического автоматического анализатора Architect i1000 (Abbott Laboratories, США).

В качестве референтных (нормальных) значений лабораторных показателей использовали данные из инструкции к набору реагентов для автоматического гематологического или биохимического анализатора.

Полученные данные обработаны с помощью программы Statistica 6.1 (Stat Soft, GS-35F-5899H). Нормальность полученных данных определяли, используя Shapiro–Wilk's test. Количественные параметры представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й (LQ) – нижний квартиль и 75-й (UQ) – верхний квартиль). Был использован корреляционный анализ по Spearman (для определения меры связи двух количественных параметров). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным и менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные показатели обследуемой группы, полученные в ходе исследования, а также референтные значения лабораторных показателей представлены в табл. 1–3.

Таблица 1

Показатели уровня такролимуса у реципиентов почечного трансплантата, нг/мл (Me [Q25; Q75])

Tacrolimus trough (C0) levels in kidney transplant recipients, ng/mL (median [Q 25–Q75])

Показатель	Сутки			
	3-и	7-е	14-е	30-е
Такролимус C_0	5,00 [3,1; 7,1]	4,15 [2,8; 5,5]	5,70 [3,85; 7,5]	7,50 [6,45; 11,3]

Таблица 2

Гематологические показатели у реципиентов почечного трансплантата (Me [Q25; Q75])

Hematological parameters in kidney transplant recipients (Me [Q25; Q75])

Показатель	Сутки						Норма
	0-е	1-е	3-и	7-е	14-е	30-е	
Эр., 10^{12}/л	3,6 [3,2; 4,1]	3,1 [2,8; 3,8]	2,9 [2,6; 3,3]	2,9 [2,6; 3,1]	3,1 [2,6; 3,3]	3,5 [3,2; 3,7]	3,7–5,3
Hb, г/л	110,0 [99,0; 123,0]	97,8 [84,5; 112,0]	86,2 [78,3; 97,7]	86,3 [78,8; 94,3]	93,6 [79,5; 100,8]	108,0 [100,0; 113,0]	120–170
Лейк., 10^9/л	7,5 [6,4; 10,6]	10,3 [8,4; 13,3]	9,6 [7,6; 11,2]	7,4 [6,0; 9,6]	8,8 [7,1; 13,4]	8,2 [5,6; 10,3]	3,7–9,0

Таблица 3

Биохимические показатели у реципиентов почечного трансплантата (Me [Q25; Q75])

Biochemical parameters in renal transplant recipients (Me [Q25; Q75])

Показатель	Сутки						Норма
	0-е	1-е	3-и	7-е	14-е	30-е	
Мочевина, ммоль/л	14,9 [11,8; 22,2]	17,7 [14,8; 24,0]	22,7 [17,7; 28,9]	17,6 [10,8; 24,6]	11,7 [9,8; 16,5]	11,9 [8,9; 15,9]	2,0–8,0
Креатинин, мкмоль/л	721,5 [609,5; 906,5]	696,0 [533,0; 853,0]	520,0 [363,0; 680,0]	259,0 [129,0; 453,0]	175,5 [140,0; 243,0]	135,0 [115,0; 221,0]	53–115
K, ммоль/л	5,2 [4,7; 5,6]	5,6 [4,6; 6,3]	4,4 [4,0; 4,9]	4,3 [3,9; 4,9]	5,0 [4,6; 5,5]	4,9 [4,5; 5,4]	3,5–5,1
Na, ммоль/л	139,0 [137,0; 141,0]	138,0 [136,0; 140,0]	139,0 [137,0; 141,0]	138,0 [136,5; 140,5]	138,0 [137,0; 141,0]	138,0 [135,0; 139,0]	136–145
Cl, ммоль/л	100,0 [97,0; 102,0]	103,0 [99,0; 106,0]	102,0 [100,0; 107,0]	104,0 [102,0; 107,0]	107,0 [104,0; 109,0]	104,0 [102,0; 107,0]	98–107
Общий белок, г/л	75,0 [71,0; 79,0]	61,0 [57,0; 64,0]	55,0 [52,0; 58,0]	56,0 [52,0; 61,0]	63,0 [54,5; 67,0]	64,0 [59,0; 66,0]	64–83
Глюкоза, ммоль/л	5,2 [4,9; 6,2]	7,3 [6,6; 8,0]	6,3 [5,3; 7,3]	5,1 [4,6; 5,6]	5,3 [4,5; 5,6]	5,2 [4,7; 7,5]	3,9–5,9
Общий билирубин, мкмоль/л	11,7 [8,9; 14,6]	10,5 [9,1; 12,5]	6,6 [5,5; 8,3]	7,8 [5,9; 11,5]	8,4 [7,3; 12,0]	8,8 [7,2; 11,6]	3,4–20,5
Ферритин, мг/л	284,7 [32,4; 379,4]	291,0 [291,0; 291,0]	162,4 [57,0; 352,8]	176,0 [93,3; 370,3]	271,8 [73,5; 320,5]	192,7 [82,6; 290,3]	15,0–300,0
Трансферрин, г/л	1,9 [1,9; 1,9]	1,5 [1,2; 1,8]	1,6 [1,3; 1,7]	1,6 [1,4; 2,0]	1,8 [1,5; 2,6]	1,9 [1,7; 2,4]	1,74–3,82
СРБ, мг/л	2,5 [1,5; 5,7]	16,1 [10,0; 33,2]	18,4 [9,3; 27,2]	7,3 [3,6; 18,9]	3,0 [0,7; 11,8]	0,6 [0,4; 2,0]	0,0–5,0
Ca, ммоль/л	2,4 [2,2; 2,5]	2,1 [1,9; 2,2]	2,0 [2,0; 2,2]	2,1 [1,9; 2,3]	2,2 [2,1; 2,3]	2,3 [2,1; 2,4]	2,1–2,55

Таблица 4

Значимые корреляционные связи уровня такролимуса (C_0) с изучаемыми показателями у реципиентов почечного трансплантата (R, p)

Significant correlations between tacrolimus trough levels (C_0) and studied parameters in kidney transplant recipients (R, p-values)

$Показатель_{сутки}$	$Так_3$	$Так_7$	$Так_{14}$
Cl_0	0,44, p = 0,014		
$Лейкоциты_1$	–0,35, p = 0,043		
$Билирубин_1$	**0,49, p = 0,007**	**0,48, p = 0,009**	
$Билирубин_3$	**0,52, p = 0,006**		
$Ферритин_0$		0,90, p = 0,037	
Ca_3		**–0,60, p = 0,031**	**–0,56, p = 0,046**
$Мочевина_0$			–0,45, p = 0,026
$Креатинин_3$			–0,39, p = 0,045

Из данных, представленных в табл. 4, можно выделить наиболее показательные корреляционные зависимости. Так, в результате проведенного исследования выявлена значимая положительная корреляционная связь уровня C_0 такролимуса на 3-и и 7-е сутки с показателем общего билирубина у реципиентов на 1-е сутки. Также отмечена положительная корреляционная связь концентрации C_0 такролимуса на 3-и сутки с уровнем общего билирубина на эти же сутки. Выявлена отрицательная корреляционная связь уровня общего кальция на 3-и сутки после операции с концентрацией C_0 такролимуса на 7-е и 14-е сутки.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным P. Marquet et al., основанным на анализе результатов исследования восемнадцати медицинских центров, которые наблюдали за 440 реципиентами почечного трансплантата в течение 9,5 ± 4,1 мес., наряду с такими показателями, как возраст, фенотип CYP3A, дислипидемия перед операцией, гематокрит и креатинин плазмы, была выявлена корреляционная связь уровня общего билирубина с концентрацией такролимуса, что явилось основанием для включения данного показателя в модель для оценки начальной дозы ингибитора кальциневрина [14].

В своих исследованиях V. Tharanon et al. показали связь между уровнями Hb и общего билирубина с пероральным клиренсом такролимуса. По их данным, наиболее влиятельным фактором на клиренс такролимуса является уровень Hb. Это можно объяснить обширным распределением такролимуса в эритроцитах, по мере снижения концентрации Hb концентрация свободного препарата в плазме увеличивается [15]. Другим значимым фактором являлся уровень общего билирубина, который был отрицательно связан с клиренсом такролимуса. Это указывало на то, что такролимус в основном выводится с желчью, а следовательно, повышение уровня общего билирубина может отражать снижение экскреции желчи, что влияет на выведение такролимуса [15].

Как известно, такролимус интенсивно метаболизируется в печени ферментами семейства цитохрома P450 (в частности, CYP3A4 и CYP3A5), при этом около 95% метаболитов такролимуса выводится с желчью и только 2% выводится с мочой. Исходя из этого, авторы предположили, что обструкция желчных протоков и/или дисфункция гепатоцитов ухудшают метаболизм печени и выведение такролимуса с желчью. Однако сообщения о повышении уровня такролимуса в сыворотке крови при обструкции желчных протоков в литературе немногочисленны. Так, в экспериментальной модели на собаках было показано, что перевязка желчных протоков значительно увеличивает площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени после перорального введения такролимуса, но не после его внутривенного введения. Кроме того, было обнаружено, что перевязка желчных протоков эффективно увеличивает биодоступность перорального такролимуса (в 3–4 раза), возможно, за счет нарушения его пресистемного метаболизма [16].

Кроме того, S. Kobuchi et al. в своем исследовании сообщили, что послеоперационная билиарная стриктура у 35 реципиентов трансплантата печени была связана с выраженной изменчивостью минимального уровня нормализованной дозы такролимуса, которая положительно коррелировала с уровнем билирубина в сыворотке [17].

Внутриклеточная концентрация Ca^{2+} строго регулируется, а динамические изменения его уровня контролируют основные клеточные процессы, такие как пролиферация, секреция, миграционный метаболизм, экспрессия генов и даже апоптоз [18]. Ключевым внутриклеточным рецептором Ca^{2+} является кальмодулин [19]. В свою очередь, связанный с Ca^{2+} кальмодулин регулирует фосфорилирование, активируя протеинфосфатазу, называемую кальциневрином [20]. Кроме того, последние исследования показали, что уровень активности Ca^{2+}-кальциневрина напрямую зависит от доступности свободного Ca^{2+}-кальмодулина [21]. В связи с тем что такролимус является ингибитором кальциневрина, активность которого напрямую связана с уровнем ионизированного кальция, расширение знаний о функционировании кальциневрина необходимо для установления эффектов ингибиторов кальциневрина с целью разработки терапевтических стратегий по оптимизации их дозирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлены значимые корреляционные зависимости концентрации такролимуса от уровня общего кальция и общего билирубина, свидетельствующие об их влиянии на метаболизм лекарственного средства.
2. Выявлена прямая корреляционная связь концентрации общего билирубина на 1-е сутки после операции и уровня такролимуса на 3-и и 7-е сутки после трансплантации почки. А низкая концентрация общего кальция на 3-и сутки ассоциирована с высоким уровнем такролимуса на 7-е и 14-е сутки после операции.
3. Полученные результаты требуют дальнейшего исследования для определения наиболее значимых клинико-лабораторных маркеров и последующей разработки на их основе метода определения оптимальной дозировки такролимуса.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Калачик ОВ*. Донорзависимые факторы риска развития ранней дисфункции аллографта при трупной трансплантации почки. *Медицинские новости*. 2018; 4: 37–41. *Kalachyk AV*. Donor related early allograft dysfunction risk factors in cadaveric kidney transplantation. *Meditsinskiye novosti*. 2018; 4: 37–41. [In Russ, English abstract].
2. *Redfield RR, Scalea JR, Zens TJ, Muth B, Kaufman DB, Djamali A et al*. Predictors and outcomes of delayed graft function after living-donor kidney transplantation. *Transpl Int.* 2016; 29 (1): 81–87. doi: 10.1111/tri.12696.
3. *Gaafar A, Iqniebi A, Sheereen A, Eldali A, Turpeinen H, Adra C et al*. Study of the cytokine polymorphisms in correlation to rejection and graft survival in renal allograft donors and recipients from a homogenous Saudi population. *Transpl Immunol*. 2014; 30 (1): 34–39. doi: 10.1016/j.trim.2013.11.006.
4. *Столяревич ЕС, Томилина НА*. Поздняя дисфункция трансплантированной почки: причины, морфологическая характеристика, подходы к профилактике и лечению. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2009; 11 (3): 114–122. *Stolyarevich ES, Tomilina NA*. Late dysfunction of the grafted kidney: causes, morphological structure, prophylaxis and treatment. *Russian Journal of Transplantology and Artificial*

Organs. 2009; 11 (3): 114–122. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2009-3-114-122.

5. *Cheung CY, Tang SCW*. Personalized immunosuppression after kidney transplantation. *Nephrology (Carlton).* 2022; 27 (6): 475–483. doi: 10.1111/nep.14035.
6. *Столяревич ЕС, Ким ИГ, Артюхина ЛЮ, Куренкова ЛГ, Федорова НД, Томилина НА*. Подходы к коррекции иммуносупрессивной терапии при хронической нефротоксичности ингибиторов кальциневрина. *Трансплантология*. 2012; (3): 26–32. *Stolyarevich ES, Kim JG, Artyukhina LYu, Kurenkova LG, Fedorova ND, Tomilina NA*. Approaches to correction of immunosuppressive therapy in chronic nephrotoxicity of calcineurin inhibitors. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2012; (3): 26–32. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2012-0-3-26-32.
7. *Никитин АВ*. Механизмы нефротоксического действия иммунодепрессантов – ингибиторов кальциневрина. *Антибиотики и химиотерапия.* 2014; 59 (1–2): 44–47. *Nikitin AV*. Mechanisms of Nephrotoxic Action of Immunodepressants, Calcineurine Inhibitors. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2014; 59 (1–2): 44–47. [In Russ, English abstract].
8. *Andrade-Sierra J, Alejandro V-GP, Hernandez-Reyes H, Mercado-Jáuregui LA, Chávez-Iñiguez JS, González-Espinoza E et al*. Immunosuppressive Minimization Strategies in Kidney Transplantation. *Organ Donation and Transplantation – Current Status and Future Challenges*. London, 2018: 353–372. doi: 10.5772/intechopen.77292.
9. *Catić-Đorđević A, Cvetković T, Stefanović N, Veličković-Radovanović R*. Current Biochemical Monitoring and Risk Management of Immunosuppressive Therapy after Transplantation. *J Med Biochem*. 2017; 36 (1): 1–7. doi: 10.1515/jomb-2016-0029.
10. *Francke MI, de Winter BCM, Elens L, Lloberas N, Hesselink DA*. The pharmacogenetics of tacrolimus and its implications for personalized therapy in kidney transplant recipients. *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development*. 2020; 5 (5): 313–316. https://doi.org/10.1080/23808993.2020.1776107.
11. *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, English abstract]. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2023-1-52-61.
12. *Andrews LM, Hesselink DA, van Gelder T, Koch BCP, Cornelissen EAM, Brüggemann RJM et al*. A population pharmacokinetic model to predict the individual starting dose of tacrolimus following pediatric renal transplantation. *Clin Pharmacokinet*. 2018; 57 (4): 475–489. doi: 10.1007/s40262-017-0567-8.
13. *Wang P, Zhang Q, Tian X, Yang J, Zhang X*. Tacrolimus starting dose prediction based on genetic polymorphisms and clinical factors in chinese renal transplant recipients. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2020; 24 (10): 665–673. doi: 10.1089/gtmb.2020.0077.
14. *Marquet P, Anglicheau D, Humeau A, Adrouche S, Saada L, Bisiaux J et al*. Tacrolimus dose requirement in *de novo* adult kidney transplant patients treated with adoport® can be anticipated. *Transpl Int*. 2024; 37: 13495. doi: 10.3389/ti.2024.13495.
15. *Tharanon V, Iamrahong P, Tuamsem J, Choochaeam K, Auamnoy T, Sobhonslidsuk A*. Hemoglobin and total bilirubin may affect tacrolimus clearance in liver transplant patient following the early postoperative period: a case report. *J Med Case Rep*. 2024; 18 (1): 408. doi: 10.1186/s13256-024-04753-3.
16. *Chan S, Burke MT, Johnson DW, Francis RS, Mudge DW*. Tacrolimus toxicity due to biliary obstruction in a combined kidney and liver transplant recipient. *Case Rep Transplant*. 2017; 2017: 9096435. doi: 10.1155/2017/9096435.
17. *Kobuchi S, Fukushima K, Maeda Y, Kokuhu T, Ushigome H, Yoshimura N et al*. Effects of Cholestasis on Whole Blood Concentration of Tacrolimus, an Immunosuppressant, in Living-Related Liver Transplant Recipients. *International Journal of Clinical Medicine.* 2013; 4 (10): 432–439. doi: 10.4236/ijcm.2013.410078.
18. *Bootman MD, Bultynck G*. Fundamentals of Cellular Calcium Signaling: A Primer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2020; 12 (1): a038802. doi: 10.1101/cshperspect.a038802.
19. *Andrews C, Xu Y, Kirberger M, Yang JJ*. Structural Aspects and Prediction of Calmodulin-Binding Proteins. *Int J Mol Sci*. 2020; 22 (1): 308. Published 2020 Dec 30. doi: 10.3390/ijms22010308.
20. *Takemoto-Kimura S, Suzuki K, Horigane SI, Kamijo S, Inoue M, Sakamoto M et al*. Calmodulin kinases: essential regulators in health and disease. *J Neurochem.* 2017; 141 (6): 808–818. doi: 10.1111/jnc.14020.
21. *Ulengin-Talkish I, Cyert MS*. A cellular atlas of calcineurin signaling. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2023; 1870 (1): 119366. doi: 10.1016/j.bbamcr.2022.119366.

Статья поступила в редакцию 3.12.2025 г.
The article was submitted to the journal on 3.12.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-208-217

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CYP3A5 НА ФАРМАКОКИНЕТИКУ ТАКРОЛИМУСА У РЕЦИПИЕНТОВ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

О.Е. Гичкун Эрсин[1, 2], Р.М. Курабекова[1], М.И. Ильчук[1], А.О. Шевченко[1, 2], Н.Н. Колоскова[1], О.П. Шевченко[1, 2]

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

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

Цель исследования: определить связь генотипов изофермента CYP3A5 с дозой и концентрацией такролимуса в цельной крови у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации. **Материалы и методы.** В исследование включены 189 реципиентов сердца, получающих такролимус в составе базовой иммуносупрессивной терапии. Проведено исследование полиморфизма гена CYP3A5 (*1/*1, *1/*3, *3/*3) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Проанализированы доза и концентрация такролимуса в цельной крови через 1 месяц, 1 год и более года (7,0 ± 3,1 года) после трансплантации сердца, а также показатели общего и биохимического анализов крови. **Результаты.** У реципиентов сердца преобладал генотип *3/*3 гена CYP3A5 (89% пациентов); генотип *1/*3 выявлен у 10%, гомозиготный *1/*1 – у 1% пациентов. У носителей аллеля 1 (*1/*3 и *1/*1) медиана дозы такролимуса была в 2 и более раза выше по сравнению с носителями генотипа *3/*3 на всех этапах наблюдения: через месяц – 8,0 [6; 10,25] и 11,0 [9,5; 12,5] мг против 4,0 [3; 6] мг ($p < 0,001$); через год – 8,0 [6; 9] и 10,0 [9; 11] мг против 3,0 [2; 5] мг ($p < 0,001$), в отдаленные сроки после трансплантации – 7,0 [6; 8] и 9,0 [7,5; 10,5] мг против 3,0 [2; 5] мг ($p < 0,001$). Концентрация такролимуса в цельной крови между группами реципиентов сердца достоверно не различалась во все сроки наблюдения. Коэффициент «концентрация/доза» (C_0/D) был достоверно выше у реципиентов сердца с генотипом *3/*3 во все сроки наблюдения после трансплантации ($p = 0,000$). В отдаленные сроки у пациентов с генотипом *3/*3 медиана уровня креатинина в сыворотке крови была достоверно выше: 107,6 [87,3; 142,1] мкмоль/л против 90,2 [75; 99,7] мкмоль/л у носителей аллеля 1* ($p = 0,001$). Выявлена корреляция концентрации такролимуса с числом лейкоцитов ($r = 0,148$; $p = 0,027$), уровнем общего билирубина ($r = 0,217$; $p < 0,001$) и холестерина ($r = –0,274$; $p < 0,001$). **Заключение.** У реципиентов сердца преобладает неэкспрессирующий генотип *3/*3 CYP3A5 (89%). У носителей функционального аллеля *1 CYP3A5 (*1/*3 и *1/*1) требуемая суточная доза такролимуса для достижения целевой концентрации препарата в крови в 2 и более раза превышает таковую у реципиентов, обладающих генотипом *3/*3 CYP3A5. Полиморфизм гена CYP3A5 является важным фактором межиндивидуальной вариабельности фармакокинетики такролимуса у реципиентов сердца. Фармакогенетическое тестирование CYP3A5 до начала терапии позволит персонализировать стартовую дозу, подбирать дозу в зависимости от наличия функционального аллеля, тем самым быстрее достигая необходимой концентрации в крови.

Ключевые слова: трансплантация сердца, такролимус, CYP3A5, иммуносупрессия, нефротоксичность.

Для корреспонденции: Гичкун Эрсин Ольга Евгеньевна. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (499) 190-53-41. E-mail: gichkunoe@yandex.ru

Corresponding author: Olga Gichkun Ersin. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (499) 190-53-41. E-mail: gichkunoe@yandex.ru

THE EFFECT OF CYP3A5 GENE POLYMORPHISM ON THE PHARMACOKINETICS OF TACROLIMUS IN HEART TRANSPLANT RECIPIENTS

O.E. Gichkun Ersin[1, 2]. R.M. Kurabekova[1], M.I. Ilchuk[1], A.O. Shevchenko[1, 2], N.N. Koloskova[1], O.P. Shevchenko[1, 2]

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

[2] Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Objective: to assess the association between CYP3A5 isoenzyme genotypes and tacrolimus (Tac) dose and whole-blood levels in heart transplant (HT) recipients in the early and long-term post-transplant periods. **Materials and methods.** The study included 189 HT recipients receiving Tac as part of their maintenance immunosuppressive therapy. CYP3A5 polymorphisms (*1/*1, *1/*3, *3/*3) were determined via real-time polymerase chain reaction. Tac dose and whole-blood concentrations were evaluated at 1 month, 1 year, and at long-term follow-up (>1 year; mean 7.0 ± 3.1 years) after HT. In addition, general and biochemical blood test results were analyzed. **Results.** The CYP3A5 *3/*3 genotype was predominant among HT recipients (89%), while the *1/*3 genotype was identified in 10% and the *1/*1 genotype in 1% of patients. Carriers of the *1 allele (*1/*3 and *1/*1) required substantially higher Tac doses – approximately twofold or greater – compared with *3/*3 carriers at all follow-up time points: at 1 month post-transplant, median doses were 8.0 [6.0–10.25] mg and 11.0 [9.5–12.5] mg versus 4.0 [3.0–6.0] mg ($p < 0.001$); at 1 year, 8.0 [6.0–9.0] mg and 10.0 [9.0–11.0] mg versus 3.0 [2.0–5.0] mg ($p < 0.001$); and at long-term follow-up, 7.0 [6.0–8.0] mg and 9.0 [7.5–10.5] mg versus 3.0 [2.0–5.0] mg ($p < 0.001$). Tac whole-blood levels did not differ significantly between groups of heart recipients at any time point during follow-up. However, the concentration-to-dose ratio (C_0/D) was significantly higher in *3/*3 carriers across all follow-up periods ($p = 0.000$). At long-term follow-up, patients with the *3/*3 genotype exhibited significantly higher median serum creatinine levels compared with carriers of the *1 allele (107.6 [87.3–142.1] μmol/L *vs* 90.2 [75.0–99.7] μmol/L; $p = 0.001$). Correlation analysis revealed significant associations between Tac levels and white blood cell count ($r = 0.148$; $p = 0.027$), total bilirubin levels ($r = 0.217$; $p < 0.001$), and cholesterol levels ($r = –0.274$; $p < 0.001$). **Conclusion.** The non-expressing CYP3A5 *3/*3 genotype is predominant among HT recipients (89%). Carriers of the functional CYP3A5 *1 allele (*1/*3 and *1/*1) require twofold or higher Tac doses to achieve target whole-blood levels compared with *3/*3 carriers. These findings confirm that CYP3A5 polymorphism is a major determinant of interindividual variability in Tac pharmacokinetics in HT recipients. Pre-treatment pharmacogenetic testing for CYP3A5 may facilitate individualized dosing strategies, enabling more rapid attainment of therapeutic drug levels.

Keywords: heart transplantation, tacrolimus, CYP3A5, immunosuppression, nephrotoxicity.

ВВЕДЕНИЕ

Продолжительность и качество жизни реципиентов солидных органов определяются адекватностью иммуносупрессивной терапии, которая должна обеспечивать баланс между профилактикой отторжения и минимизацией побочных эффектов. Такролимус является ключевым иммуносупрессивным препаратом, используемым в комплексной иммуносупрессивной терапии у реципиентов сердца. Такролимус ингибирует фосфатазную активность кальциневрина, подавляет активацию Т-клеток и снижает риск иммуноопосредованного отторжения трансплантата [1]. Действие такролимуса является дозозависимым с узким терапевтическим диапазоном, что требует регулярного лабораторного контроля для поддержания эффективности препарата в крови. Для такролимуса характерна значительная внутри- и межиндивидуальная фармакокинетическая вариабельность [2]. Недостаточная концентрация такролимуса в крови повышает риск развития острого и хронического отторжения трансплантата, тогда как избыточная концентрация ассоциирована с нефротоксичностью, нейротоксичностью, нарушением метаболизма глюкозы, гипертензией и риском инфекций, поэтому очень важно как можно быстрее подобрать индивидуально необходимую дозу для достижения стабильной концентрации в цельной крови. Рутинный подход к назначению дозы, основанный на расчете по массе тела, часто не позволяет быстро достичь целевых концентраций в крови, требует дополнительного лабораторного мониторинга и коррекции дозы препарата [3]. Поиск неинвазивных предикторов и маркеров, позволяющих персонализировать дозы иммуносупрессивных препаратов, способствовал выявлению фармакогенетических маркеров (полиморфизмы генов CYP3A5, CYP3A4, ABCB1

и др.), а также биомаркеров, позволяющих прогнозировать индивидуальную вариабельность метаболизма и ответа на иммуносупрессанты [4, 5]. Более того, нами было установлено, что полиморфизм гена трансформирующего фактора роста β1 связан с отдаленными результатами трансплантации сердца, а у детей – реципиентов печени величина концентрации трансформирующего фактора роста β1 в крови до трансплантации может быть прогностически значима в отношении дозы такролимуса, требуемой для достижения целевой концентрации, спустя год после трансплантации печени [6, 7].

Такролимус метаболизируется главным образом с помощью ферментов биотрансформации цитохрома P450 (CYP) 3A4 и 3A5 в печени и кишечнике [8].

Полиморфизмы в генах CYP3A существенно влияют на метаболизм такролимуса, определяя разные требования к дозировке иммуносупрессанта у реципиентов солидных органов [9].

В частности, практическое значение имеет полиморфизм 6986A>G CYP3A5. Функциональный фермент CYP3A5 кодируется аллельной формой CYP3A5*1. Полиморфизм в интроне 3 (замена гуанина на аденин в положении 6986 нуклеотидной последовательности) гена CYP3A5 влияет на экспрессию этого фермента и уровень такролимуса в крови. Замена нуклеотида в гене CYP3A5 (аллель CYP3A5*3) приводит к недостаточной функциональной активности CYP3A5 в ткани печени (CYP3A5 – не экспрессоры). Гетерозиготные или гомозиготные носители аллеля дикого типа CYP3A5*1, обозначенные как *1/*1 и *1/*3, продуцируют высокие уровни мРНК и белка (CYP3A5-экспрессоры), тем самым повышая скорость метаболизма такролимуса и требуя более высокой дозы для достижения целевой концентрации препарата [10]. Большинство исследований фармакогенетики такролимуса проведено у реципиентов почки и печени, в то время как данные о реципиентах сердца остаются ограниченными [11].

Учитывая потенциальную клиническую значимость фармакогенетического тестирования для персонализации иммуносупрессивной терапии и ограниченность данных о влиянии полиморфизма CYP3A5 на фармакокинетику такролимуса, у реципиентов сердца было проведено настоящее исследование.

Целью исследования было оценить связь генотипов изофермента CYP3A5 с дозой и концентрацией такролимуса в крови реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 189 случайно отобранных реципиентов, которым в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в период с 2017-го по 2019 год была выполнена трансплантация сердца; все этнически русские, мужчин – 163 (86%), возраст реципиентов составил 54 ± 14 лет (от 18 до 86). Срок наблюдения после трансплантации сердца 7,0 ± 3,1 года.

Обследование и лечение пациентов проведено в соответствии с клиническими рекомендациями ОООТ «Российское трансплантологическое общество» [12]. Все реципиенты сердца принимали такролимус в составе 3-компонентной иммуносупрессивной терапии.

Геномную ДНК выделяли из периферической крови согласно протоколу с помощью коммерческого набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, США) на автоматическом анализаторе QIAcube™ (Qiagen, Германия). Проведено генотипирование полиморфизма 6986A>G CYP3A5 (1/1, 1/3, 3/3) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с помощью наборов реагентов «Литех» (Россия) на амплификаторе CFX96 ™ (Bio-Rad, США). Зонды с флуоресцентными метками по каналам HEM (аллель 1) / FAM (аллель 2) детектировали на каждом цикле амплификации. Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения BioRad CFX manager 3.0 software. Пациенты с вариантами CYP3A5*1/*1 или CYP3A5 *1/*3 называли «экспрессирующими», в то время как пациенты с вариантами CYP3A5 *3/*3 называли «неэкспрессирующими».

Концентрацию такролимуса определяли в цельной крови методом иммунохемилюминесценции на анализаторе Architect i2000 system и Cobas e411 Roche Diagnostics с помощью специфических наборов реагентов. Образцы крови забирались утром перед приемом очередной дозы препарата (C_0). Дозу и концентрацию такролимуса анализировали через 1 месяц, 1 год после трансплантации сердца и при последнем амбулаторном посещении ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (более года). Рассчитывали коэффициент «концентрация/доза» (C/D ratio) по формуле: C/D = C_0 (нг/мл) / суточная доза (мг).

Исследования лабораторных параметров включали общий анализ крови (количество лейкоцитов, лимфоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, а также концентрацию гемоглобина); биохимический анализ крови (уровни креатинина, мочевины, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), общего билирубина, общего белка, холестерина, глюкозы, мочевой кислоты, а также концентрации электролитов – фосфора, кальция и магния). Расчетную скорость клубочковой фильтрации (рСКФ) определяли по формуле CKD-EPI.

Статистический анализ проводили с помощью пакета прикладных программ для научно-технических расчетов STATISTICS 7,0 (SPSS Inc., США).

Количественные показатели описывались с помощью медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q1; Q3]. Категориальные показатели описывались с указанием значений и процентных долей. Корреляционный анализ проводили по Спирмену. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 189 реципиентов трансплантированного сердца, характеристика которых представлена в табл. 1.

Возраст пациентов на момент исследования составил 54 ± 14 лет, преобладали лица мужского пола (86%). Медиана индекса массы тела (ИМТ) составила 26,3 [23,6; 28,6] кг/м^2. Дилатационная кардиомиопатия была наиболее распространенным показанием к трансплантации сердца (50%), ишемическая болезнь сердца составила 39% от всех диагнозов пациентов, отторжение сердечного трансплантата – 7%, ГКМП и РКМП вместе составили 3%.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Baseline clinical and demographic characteristics of patients included in the study

Показатель	Значение показателя
Возраст, лет	54 ± 14
Пол, n (%) мужской женский	 163 (86) 26 (14)
ИМТ, Me [Q1; Q3], кг/м^2	26,3 [23,6; 28,6]
Предтрансплантационный диагноз, n (%) ДКМП ИБС Отторжение СТ ГКМП РКМП Некомпактный миокард	 94 (50) 74 (39) 13 (7) 1 (0,5) 5 (2,5) 2 (1)
Фракция выброса левого желудочка, Me [Q1; Q3], %	65 [62; 67]
рСКФ, Me [Q1; Q3], мл/мин/1,73 м^2	73 [54; 73]
Креатинин сыворотки крови, Me [Q1; Q3], мкмоль/л	102 [83; 131]

Примечание. ДКМП – дилатационная кардиомиопатия; ГКМП – гипертрофическая кардиомиопатия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМТ – индекс массы тела; РКМП – рестриктивная кардиомиопатия; СТ – сердечный трансплантат; рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации.

Note. ДКМП – dilated cardiomyopathy; ГКМП – hypertrophic cardiomyopathy; ИБС – coronary artery disease; ИМТ – body mass index; РКМП – restrictive cardiomyopathy; СТ – heart transplant; рСКФ – estimated glomerular filtration rate.

В табл. 2 представлено распределение генотипов и аллелей CYP3A5 у реципиентов сердца, включенных в исследование.

У пациентов, включенных в исследование, преобладал генотип CYP3A5 *3/*3 – 168 пациентов (89%). Гетерозиготный генотип *1/*3 выявлен у 19 (10%) реципиентов, гомозиготный *1/*1 – всего у 2 (1%) пациентов. Частота встречаемости функционального аллеля *1 составила 6%.

Анализ первичных диагнозов (дилатационная кардиомиопатия, ишемическая болезнь сердца, гипертрофическая кардиомиопатия и др.) не выявил статистически значимых различий в их распределении между генотипическими группами.

Был проведен сравнительный анализ суточной дозы и остаточной концентрации такролимуса в цельной крови у реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации.

У реципиентов сердца – носителей функционального аллеля *1 (*1/*3 и *1/*1) суточная доза такролимуса была выше на всех этапах наблюдения в сравнении с носителями генотипа (*3/*3) ($p < 0,001$). Носителям функционального аллеля *1 требовалась в 2 и более раза более высокая доза такролимуса, чем нефункционального генотипа *3/*3 (табл. 3).

Остаточная концентрация такролимуса в цельной крови не различалась между группами генотипов во все периоды наблюдения ($p > 0,05$). Учитывая малое количество пациентов с генотипом *1/*1 (n = 2), для дальнейшего анализа носители дикого аллеля 1 были объединены в одну группу (*1/*1 + *1/*3, n = 21). Провели сравнительный анализ коэффициента «концентрация/доза» C_0/D, отражающего метаболизм такролимуса, у реципиентов сердца с разными генотипами (рис. 1).

Коэффициент C_0/D был достоверно выше у пациентов с генотипом 3*/3* в сравнении с пациентами – носителями функционального аллеля на всех сроках

Таблица 2

Распределение генотипов и аллелей гена CYP3A5 у реципиентов сердца, включенных в исследование

Distribution of CYP3A5 genotypes and allele frequencies among heart transplant recipients

Генотип CYP3A5	**Количество пациентов**
*3/*3	168 (89%)
*1/*1	2 (1%)
*1/*3	19 (10%)
Аллель	**Частота**
*3 (нефункциональный)	355 (94%)
*1 (функциональный)	23 (6%)

наблюдения (медианы 2,1; 2,4; 2,3 против 1,1; 1,1; 0,9), то есть для достижения целевой концентрации такролимуса в крови реципиентам с генотипом *3/*3 требуется меньшая доза препарата. Представленные различия, очевидно, отражают сниженный клиренс такролимуса у неэкспрессоров (p = 0,000, во всех случаях).

Доза микофеноловой кислоты не различалась между группами через 1 месяц и 1 год и более после трансплантации (p > 0,05), что исключает влияние комбинированной терапии на выявленные различия.

Показатели общего анализа крови в отдаленные сроки не различались у пациентов с различным генотипом CYP3A5 (p > 0,05).

Сравнительный анализ показателей биохимического анализа крови в отдаленные сроки (более года) в зависимости от генотипа изофермента CYP3A5 у реципиентов сердца показал, что большинство параметров не различались (табл. 4).

У пациентов с генотипом 3*/3* выявлен достоверно более высокий уровень креатинина в сыворотке крови (107,6 [87,3; 142,1] мкмоль/л) по сравнению с носителями функционального аллеля (90,2 [75; 99,7] мкмоль/л; p = 0,02) (рис. 2).

Медиана уровня скорости клубочковой фильтрации (СКФ) не различалась в исследуемых группах и составила 68,3 [52,7; 84,8] и 80,5 [74,5; 90,8] мл/мин/1,73м^2 (p = 0,17).

Таблица 3

Сравнительный анализ суточной дозы такролимуса в первый месяц, год и более после трансплантации сердца

Comparative analysis of daily tacrolimus dose at 1 month, 1 year, and long-term follow-up after heart transplantation

Срок после трансплантации	Доза, мг		
	*3/*3	*1/*3	*1/*1
1 месяц	4,0 [3; 6]*, **	8,0 [6; 10,25]	11,0 [9,5; 12,5]
1 год	3,0 [2; 5]*, **	8,0 [6; 9]	10,0 [9; 11]
Более 1 года	3,0 [2; 5]*, **	7,0 [6; 8]	9,0 [7,5; 10,5]

Примечание. * – p < 0,001 в сравнении с генотипом *1/*1; ** – p < 0,001 в сравнении с генотипом *1/*3.

Note. * – p < 0.001 *vs* CYP3A5 *1/*1; ** – p < 0.001 *vs* CYP3A5 *1/*3.

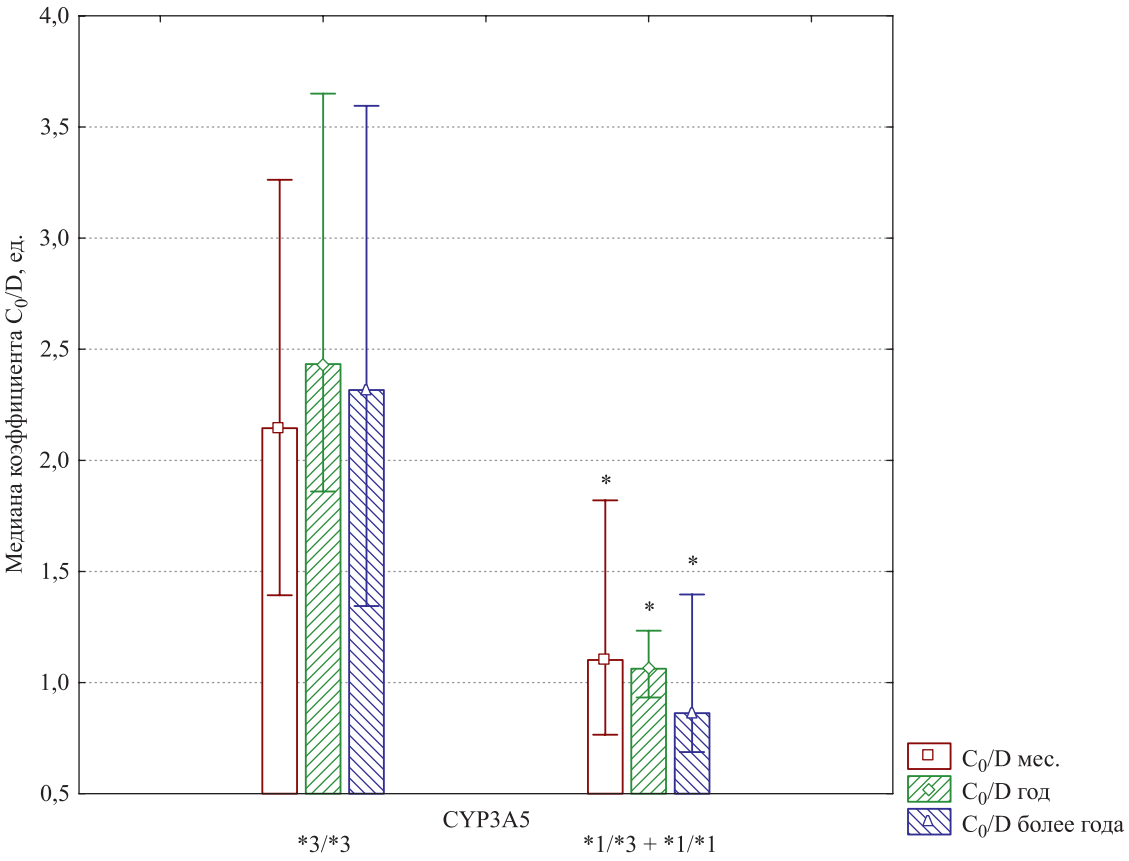


Рис. 1. Сравнительный анализ величины медианы коэффициента «концентрация/доза» (C_0/D) такролимуса у реципиентов с различным генотипом CYP3A5. * – p = 0,000 в сравнении с генотипом *3/*3 во все сроки наблюдения

Fig. 1. Comparative analysis of the median tacrolimus concentration-to-dose ratio (C_0/D) among HT recipients with different CYP3A5 genotypes. * – p = 0.000 compared with the *3/*3 genotype at all follow-up time points

У реципиентов сердца уровень такролимуса прямо коррелировал с числом лейкоцитов (r = 0,138, p = 0,027). Выявлены слабые, но статистически значимые корреляции между дозой такролимуса и уровнем

Таблица 4

Сравнительный анализ показателей биохимического анализа крови в отдаленные сроки у пациентов с различным генотипом CYP3A5

Comparative analysis of long-term blood biochemistry parameters by CYP3A5 genotype

Параметры биохимического анализа крови	Генотип CYP3A5		p
	*3/*3	*1/*1 + *1/*3	
Мочевина, ммоль/л	8,4 [6,3; 11,5]	7,6 [6,39; 9,52]	0,342
Креатинин, мкмоль/л	107,6 [87,3; 142,1]	90,2 [81,1; 102,3]	**0,020**
рСКФ, мл/мин/1,73м^2	68,3 [52,7; 84,8]	80,5 [74,5; 90,8]	0,17
АСТ, Ед/л	20,6 [17,3; 25,9]	21,4 [16,6; 27,4]	0,964
АЛТ, Ед/л	18,1 [13,7; 24,8]	21,4 [14; 31,3]	0,751
Общий билирубин, мкмоль/л	14,7 [11,3; 22,1]	16,7 [11,8; 21,3]	0,273
Общий белок, г/л	71,3 [67,5; 75,4]	73 [69,2; 76,8]	0,341
Глюкоза, ммоль/л	5,6 [5,1; 6,6]	5,5 [5,1; 6,4]	0,262
Мочевая кислота, мкмоль/л	404,5 [347,4; 464,3]	367,9 [319,8; 466]	0,347
Холестерин, ммоль/л	4,37 [3,68; 5,18]	4,14 [3,3; 5,32]	0,894
Кальций, ммоль/л	2,4 [2,34; 2,48]	2,43 [2,35; 2,48]	0,271
Магний, ммоль/л	0,73 [0,69; 0,77]	0,66 [0,63; 0,72]	0,240
Фосфор, моль/л	1,08 [0,96; 1,26]	1,09 [1,00; 1,21]	0,986

Примечание. АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза.

Note. AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine aminotransferase.

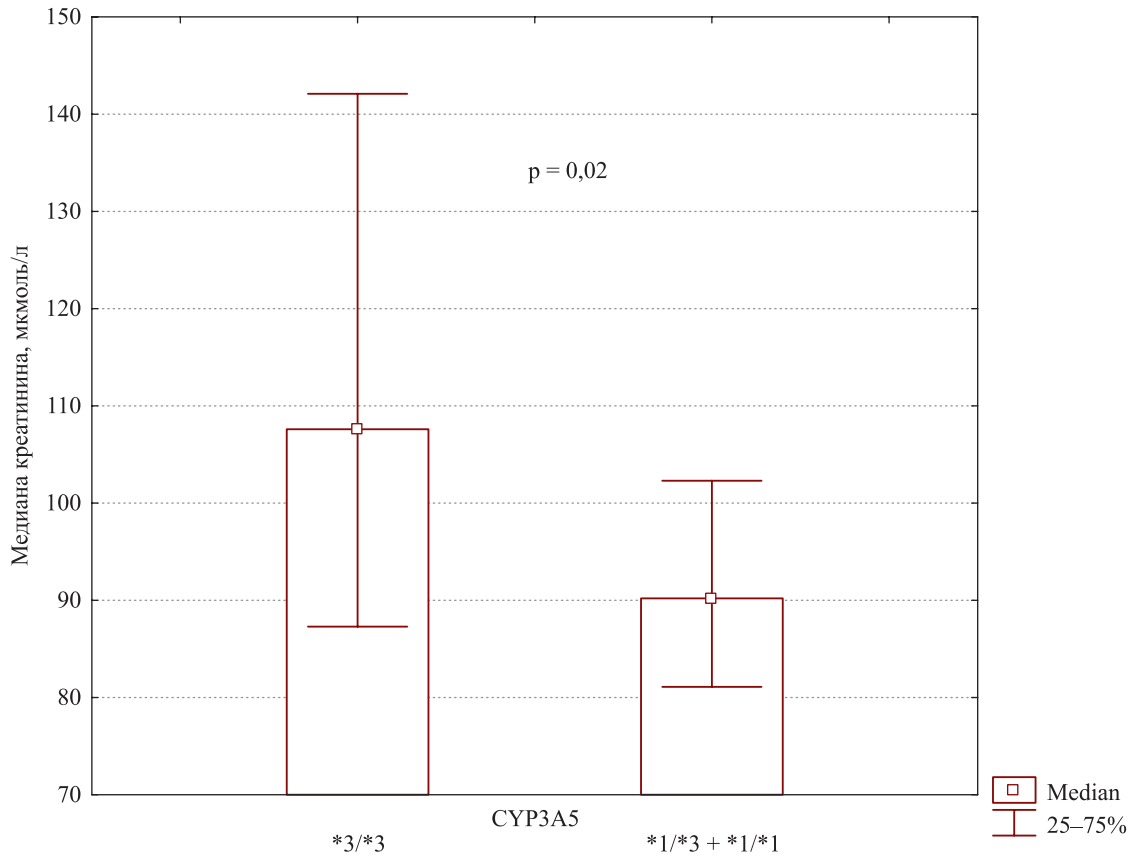


Рис. 2. Сравнение медианы уровня креатинина в сыворотке крови в зависимости от генотипа CYP3A5 у реципиентов сердца

Fig. 2. Comparison of median serum creatinine levels among heart transplant recipients stratified by CYP3A5 genotype

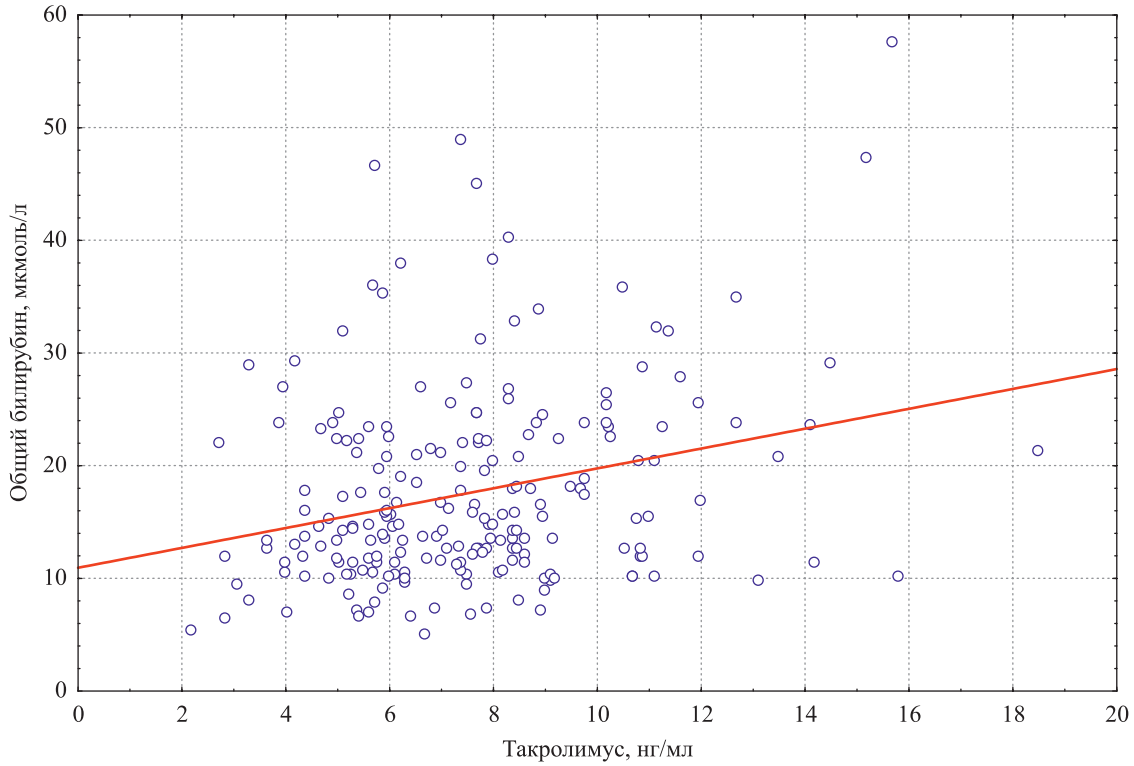


Рис. 3. Корреляционная связь уровня общего билирубина и концентрации такролимуса в цельной крови у реципиентов сердца спустя год и более после трансплантации

Fig. 3. Correlation between total bilirubin and whole-blood tacrolimus levels in heart transplant recipients at ≥1 year post-transplantation

АЛТ (r = 0,151, p = 0,031), концентрация такролимуса прямо коррелировала с уровнем общего билирубина (r = 0,217, p < 0,001) (рис. 3).

У реципиентов сердца уровень такролимуса имел обратную корреляцию с уровнем холестерина (r = –0,274, p = 0,000).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании проведен анализ распределения генотипов и аллелей гена CYP3A5 у реципиентов сердца и оценено их влияние на фармакокинетику такролимуса. Полученные данные подтверждают важную роль полиморфизма (6986A>G) CYP3A5 в формировании межиндивидуальной вариабельности доз препарата.

В исследуемой группе пациентов выявлено преобладание лиц с генотипом *3/*3 CYP3A5 (89%), что соответствует частотам, характерным для лиц европейского происхождения. Согласно данным Консорциума по внедрению клинической фармакогенетики (The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium, CPIC), частота нефункционального фенотипа (*3/*3) у европеоидов составляет в среднем 85–90% [8].

Основным результатом работы стало подтверждение того, что носители дикого аллеля *1 CYP3A5 (генотипы *1/*3 и *1/*1) требуют статистически значимо более высоких доз такролимуса для достижения целевых концентраций препарата в крови. Во все сроки наблюдения (1 месяц, 1 год и более) суточная доза у экспрессоров была в 2,5 раза выше, чем у пациентов с генотипом *3/*3 (p < 0,001). Эти данные полностью согласуются с результатами крупных метаанализов и клинических рекомендаций CPIC, согласно которым стартовая доза такролимуса для экспрессоров CYP3A5 должна быть увеличена в 1,5–2 раза от стандартной [3, 8].

При этом концентрация такролимуса в цельной крови достоверно не различалась между группами, что свидетельствует об эффективности проводимого терапевтического лекарственного мониторинга, позволяющего нивелировать исходные фармакогенетические различия. Однако, как отмечают M. Brunet et al., у экспрессоров CYP3A5 достижение целевых концентраций в раннем посттрансплантационном периоде часто занимает больше времени и требует более частых коррекций дозы, что потенциально повышает риск как отторжения (при субтерапевтических концентрациях), так и токсичности при форсированном увеличении дозы [3].

В последнее время отношение концентрации такролимуса к дозе C_0/D, представляющее собой остаточный уровень такролимуса в крови (C_0 в нг/мл), деленное на суточную дозу препарата (D

в мг), используют, как простой и многообещающий показатель метаболического статуса такролимуса. Те пациенты, у которых низкое соотношение C_0/D (<1,05), обычно описываются как «быстро метаболизирующиеся», и как продемонстрировано в исследовании TOMATO (Tacrolimus Metabolization in Kidney Transplantation), у них были случаи ухудшения функции аллотрансплантата и более короткой выживаемости аллотрансплантата [13].

Коэффициент «концентрация/доза» (C_0/D) в нашем исследовании был достоверно выше у неэкспрессоров (генотип *3/*3) во все сроки после трансплантации (p = 0,000), что отражает сниженный клиренс препарата. Низкий коэффициент C_0/D – менее 1,05 (нг/мл)/(мг/сут) – может служить суррогатным маркером наличия функциональной аллели *1 в случаях, когда генетическое тестирование недоступно, что согласуется с наблюдениями других авторов [14].

Особого внимания заслуживает анализ показателей функции почек. У реципиентов сердца медиана уровня креатинина составила 102,1 [87,3; 131,2] мкмоль/л, что входит в диапазон референтных значений. При сравнительном анализе уровня креатинина в зависимости от наличий функционального аллеля: у пациентов с генотипом CYP3A5*3/*3 выявлен достоверно более высокий уровень сывороточного креатинина (107,6 мкмоль/л против 90,2 мкмоль/л; p = 0,02) по сравнению с носителями аллеля *1.

Расчетная скорость клубочковой фильтрации (рСКФ) не достигла статистически значимых различий (p = 0,17), наблюдаемая тенденция к ее снижению у реципиентов с генотипом *3/*3 может указывать на повышенный риск нефротоксичности.

Это наблюдение согласуется с данными ряда исследований. J.S. Chen et al. также обнаружили, что частота подтвержденной при биопсии нефротоксичности в первые 3 месяца после трансплантации почки была выше именно в группе с генотипом *3/*3 CYP3A5, что авторы связали с более высокой системной экспозицией такролимуса [15]. Механизм может быть обусловлен не только системной концентрацией, но и накоплением в тканях. В почках неэкспрессоров, где локальная активность CYP3A5 снижена, метаболизм такролимуса замедлен, что ведет к его накоплению в канальцевом эпителии и прямому токсическому повреждению [16]. Кроме того, важную роль играет транспорт препарата: Р-гликопротеин (кодируемый геном ABCB1) участвует в выведении такролимуса из клеток, и полиморфизмы генов-транспортеров могут модулировать внутриклеточную концентрацию независимо от плазменной [17].

В то же время опубликованные данные по этому вопросу противоречивы. D.R. Kuypers et al., напротив, сообщили о более высокой частоте нефротоксичности у гетерозигот *1/*3 [18], а L. Quteineh et al. не выявили связи между полиморфизмом CYP3A5 и повреждением почек [19]. Такие расхождения могут быть связаны с различиями в размере выборки, этническом составе, критериях диагностики нефротоксичности, а также с влиянием донорских факторов и сопутствующей терапии. Возможно, что за нефротоксичность ответственны не столько сами различия в генотипе реципиента, сколько метаболиты такролимуса или комбинация генетических факторов реципиента и донора [17, 18].

Выявленные в нашем исследовании корреляционные связи, хотя и являлись слабыми, представляют интерес для понимания плейотропных эффектов такролимуса. Положительная корреляция концентрации такролимуса с уровнем общего билирубина (r = 0,217; p < 0,001) может отражать конкуренцию за пути метаболизма в печени или легкое холестатическое действие препарата. P. Marquet et al. включили уровень билирубина в комплексную фармакокинетическую модель для предсказания индивидуальной дозы такролимуса у реципиентов почки, что подчеркивает значимость этого показателя [20].

Обратная корреляция с уровнем холестерина (r = –0,274; p < 0,001) согласуется с известным эффектом ингибиторов кальциневрина – развитием дислипидемии, – который может быть опосредован влиянием на синтез липопротеидов [21]. С другой стороны, липидный профиль сам способен влиять на фармакокинетику: такролимус в значительной степени связывается с липопротеидами и эритроцитами, и изменения липидного состава крови могут влиять на его распределение и свободную фракцию. Положительная корреляция с числом лейкоцитов требует осторожной интерпретации, так как может отражать общее состояние пациентов или влияние сопутствующей терапии.

Ограничения исследования

Полученные данные подтверждают, что учет полиморфизма CYP3A5 является важным инструментом для персонализации иммуносупрессивной терапии при трансплантации сердца. Внедрение предтрансплантационного фармакогенетического тестирования позволит не только оптимизировать стартовую дозу, но и потенциально снизить риск как острого отторжения (у реципиентов-экспрессоров), так и токсических осложнений (у реципиентов – носителей генотипа *3/*3) [1, 5, 8].

Ограничением настоящей работы является относительно небольшая численность подгруппы носителей аллеля *1 (n = 21), что не позволило провести полноценный анализ отдельно для генотипа *1/*1. Также мы не учитывали полиморфизмы генов-транспортеров (ABCB1) и донорский генотип, которые могут вносить дополнительный вклад в вариабельность фармакокинетики и риск нефротоксичности [13, 18].

Перспективным направлением является разработка фармакокинетических моделей, интегрирующих как генетические, так и клинические (гематокрит, билирубин, возраст пациента) факторы для более точного прогнозирования индивидуальной дозы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полиморфизм CYP3A5 является значимым фактором межиндивидуальной вариабельности фармакокинетики такролимуса у реципиентов сердца. У реципиентов сердца преобладает неэкспрессирующий генотип *3/*3 CYP3A5 (89%). У носителей функционального аллеля *1 CYP3A5 (*1/*3 и *1/*1) требуемая суточная доза такролимуса для достижения целевой концентрации препарата в крови в 2 и более раза превышала таковую у реципиентов, обладающих генотипом *3/*3 CYP3A5 ($p < 0,001$). Коэффициент C_0/D достоверно выше у пациентов с генотипом *3/*3 CYP3A5 и отражает сниженный метаболизм такролимуса у неэкспрессоров. У реципиентов с генотипом *3/*3 CYP3A5 имеет место более высокий уровень креатинина даже при низких дозах такролимуса. Фармакогенетическое тестирование CYP3A5 до начала терапии позволит персонализировать стартовую дозу, подбирать дозу в зависимости от наличия функционального аллеля, тем самым быстрее достигая необходимой концентрации в крови.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Kittleson M, Chang D, Patel J, Geft D, Jamero G, Bhatnagar N et al*. Is Targeting Lower Tacrolimus Levels During the First Year After Heart Transplant Safe/Effective? *J Heart Lung Transplant*. 2024; 43: S515–S516. doi: 10.1016/j.healun.2024.02.726.
2. *Thongprayoon C, Hansrivijit P, Kovvuru K, Kanduri SR, Bathini T, Pivovarova A et al*. Impacts of High Intra- and Inter-Individual Variability in Tacrolimus Pharmacokinetics and Fast Tacrolimus Metabolism on Outcomes of Solid Organ Transplant Recipients. *J Clin Med*. 2020 Jul 11; 9 (7): 2193. doi: 10.3390/jcm9072193.
3. *Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A, Haufroid V, Hesselink DA, Langman L et al*. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus – Personalized therapy: Second consensus report. *Ther Drug Monit*. 2019; 41: 261–307. doi: 10.1097/FTD.0000000000000640.
4. *Шевченко АО, Тюняева ИЮ, Лысенко ММ, Колоскова НН, Муминов ИИ, Захаревич НЮ*. Прогностическое значение неинвазивного индекса эластичности стенки общей сонной артерии у реципиентов сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (3): 141–146. *Shevchenko AO, Tyunyaeva IYu, Lysenko MM, Koloskova NN, Muminov II, Zakharevich NYu*. Predictive value of non-invasive common carotid artery elasticity in heart recipients. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (3): 141–146. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2024-3-141-146.
5. *Сычев ДА*. Генетические особенности пациента могут влиять на профиль эффективности и безопасности лекарственного препарата. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2024; 12 (2): 127–131. *Sychev DA*. Genetic features of a patient may influence the efficacy and safety profile of a medicinal product. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2024; 12 (2): 127–131. (In Russ.). doi: 10.30895/2312-7821-2024-12-2-127-131.
6. *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.
7. *Курабекова РМ, Цирульникова ОМ, Гичкун ОЕ, Пашкова ИЕ, Олефиренко ГА, Шевченко ОП*. Диагностическая эффективность трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF-β1) при подборе индивидуальной дозы такролимуса у детей – реципиентов печени. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (4): 38–43. *Kurabekova RM, Tsiroulnikova OM, Gichkun OE, Pashkova IE, Olefirenko GA, Shevchenko OP*. Diagnostic effectiveness of transforming growth factor beta 1 (TGF-β1) at adjustment of tacrolimus individual dose in pediatric liver recipients. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (4): 38–43. (In Russ.). https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-4-38-43.
8. *Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W et al*. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2015; 98: 19–24. doi: 10.1002/cpt.113.
9. *Yu M, Liu M, Zhang W, Ming Y*. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Pharmacogenetics of Tacrolimus in Kidney Transplantation. *Curr Drug Metab*. 2018; 19 (6): 513–522. doi: 10.2174/1389200219666180129151948.
10. *Ghafari S, Dashti-Khavidaki S, Khatami MR, Ghahremani MH, Seyednejad SA, Beh-Pajooh A*. Association Between CYP3A5 Genetic Polymorphisms With Tacrolimus Dose Requirement and Allograft Outcomes in Iranian Kidney Transplant Recipients. *Iran J Kidney Dis*. 2019; 13 (6): 414–416.
11. *Nguyen TVA, Nguyen HD, Nguyen TLH, Le VT, Nguyen XK, Tran VT et al.* Higher Tacrolimus Trough Levels and Time in the Therapeutic Range Are Associated With the Risk of Acute Rejection in the First Month After Renal Transplantation. *BMC Nephrol*. 2023; 24 (1): 131. doi: 10.1186/s12882-023-03188-0.
12. Такролимус. Клинические рекомендации [Электронный ресурс]. *Рубрикатор клинических рекомендаций*. Минздрав России. Tacrolimus. Clinical guidelines [Electronic resource]. *Clinical guidelines index*. Ministry of Health of the Russian Federation. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/762_1 (дата обращения/date of access: 13.03.2026).

13. *Jouve T, Fonrose X, Noble J, Janbon B, Fiard G, Malvezzi P et al*. The TOMATO Study (Tacrolimus Metabolization in Kidney Transplantation): Impact of the Concentration-Dose Ratio on Death-censored Graft Survival. *Transplantation*. 2020; 104 (6): 1263–1271. doi: 10.1097/TP.0000000000002920.
14. *Lenain R, Maanaoui M, Hamroun A, Larrue R, Van Der Hauwaert C, Gibier JB et al*. Impact of Tacrolimus Daily Dose Limitation in Renal Transplant Recipients Expressing CYP3A5: A Retrospective Study. *J Pers Med*. 2021; 11 (10): 1002. doi: 10.3390/jpm11101002.
15. *Chen JS, Li LS, Cheng DR, Ji SM, Sun QQ, Cheng Z et al*. Effect of CYP3A5 genotype on renal allograft recipients treated with tacrolimus. *Transplant Proc*. 2009; 41 (5): 1557–1561. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.01.097.
16. *Koch I, Weil R, Wolbold R, Brockmoller J, Hustert E, Burk O et al*. Interindividual variability and tissue-specificity in the expression of cytochrome P450 3A mRNA. *Drug Metab Dispos*. 2002; 30 (10): 1108–1114. doi: 10.1124/dmd.30.10.1108.
17. *Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC*. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84 (21): 7735–7738. doi: 10.1073/pnas.84.21.7735.
18. *Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, Vanrenterghem Y*. A prospective, open-label, observational clinical cohort study of the association between delayed renal allograft function, tacrolimus exposure, and CYP3A5 genotype in adult recipients. *Clin Ther*. 2010; 32 (12): 2012–2023. doi: 10.1016/j.clinthera.2010.11.010.
19. *Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V, Durrbach A, Letierce A, Ferlicot S et al*. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008; 103 (6): 546–552. doi: 10.1111/j.1742-7843.2008.00327.x.
20. *Marquet P, Anglicheau D, Humeau A, Adrouche S, Saada L, Bisiaux J et al*. Tacrolimus dose requirement in de novo adult kidney transplant patients treated with adoport® can be anticipated. *Transpl Int*. 2024; 37: 13495. doi: 10.3389/ti.2024.13495.
21. *Iannuzzo G, Cuomo G, Di Lorenzo A, Tripaldella M, Mallardo V, Iaccarino Idelson P et al*. Dyslipidemia in Transplant Patients: Which Therapy? *J Clin Med*. 2022; 11 (14): 4080. doi: 10.3390/jcm11144080.

Статья поступила в редакцию 30.03.2026 г.
The article was submitted to the journal on 30.03.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-218-226

ГЕМОДИНАМИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В КРОВОТОКЕ

Д.Н. Шилкин[1, 2], Р.Р. Салохединова[1], А.С. Бучнев[2], В.А. Еленкин[2]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
[2] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Цель работы: оценить влияние гемодинамической нагрузки на функциональную активность фактора фон Виллебранда (ФВ) в условиях *in vitro* и определить возможности использования этих данных для прогнозирования тромбообразования при испытаниях медицинских изделий, функционирующих в кровотоке. **Материалы и методы.** Использовалась свежая обогащенная тромбоцитами плазма (PRP) человека. В замкнутой системе с перистальтическим насосом моделировались стеноз-подобные условия (диаметр канала 0,7 мм), обеспечивавшие скорости сдвига γ = 1000, 3000 и 5000 $с^{-1}$. Контроль проводился в канале диаметром 3 мм. Активность фактора фон Виллебранда (vWF Act, %) определялась после одного и двух циклов циркуляции. **Результаты.** В контрольных условиях снижение активности ФВ было минимальным (до 69,2% после двух циклов). В стеноз-подобных каналах отмечалось достоверное уменьшение активности ФВ, выраженность которого зависела от скорости сдвига: при γ = 1000 $с^{-1}$ – до 65,1%, при γ = 3000 $с^{-1}$ – до 63,6%, при γ = 5000 $с^{-1}$ – до 62,6%. Наибольшее падение наблюдалось уже после первого прохождения через сужение. Микроскопически при γ = 5000 $с^{-1}$ выявлялись агрегаты тромбоцитов. **Заключение.** Установлено, что повышение скорости сдвига приводит к активации и деградации ФВ, преимущественно за счет утраты высокомолекулярных мультимеров. Эти данные подтверждают ключевую роль гидродинамических параметров в нарушении гемостаза при стенозах и использовании устройств механической поддержки кровообращения. Включение оценки активности ФВ и мультимерного профиля в протоколы испытаний сосудистых протезов и экстракорпоральных систем может повысить точность прогнозирования их гемосовместимости.

Ключевые слова: фактор фон Виллебранда, ADAMTS-13, shear stress, механическая поддержка кровообращения, протезы кровеносных сосудов, гемосовместимость.

Для корреспонденции: Шилкин Дмитрий Николаевич. Адрес: 121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135. Тел. (922) 892-28-98. E-mail: d@dnshilkin.ru

Corresponding author: Dmitry Shilkin. Address: 135, Rublevskoye Shosse, 121552, Moscow, Russian Federation. Phone: (922) 892-28-98. E-mail: d@dnshilkin.ru

HEMODYNAMIC ACTIVATION OF VON WILLEBRAND FACTOR: AN EXPERIMENTAL STUDY FOR PREDICTING THROMBUS FORMATION IN BLOOD-CONTACTING MEDICAL DEVICES

D.N. Shilkin[1, 2], R.R. Salokhedinova[1], A.S. Buchnev[2], V.A. Elenkin[2]

[1] Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, Russian Federation
[2] Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

Objective: to evaluate the effect of hemodynamic stress on the functional activity of von Willebrand factor (VWF) *in vitro* and to assess the potential of these data for predicting thrombus formation during testing of blood-contacting medical devices. **Materials and methods.** Fresh human platelet-rich plasma (PRP) was used in all experiments. Hemodynamic conditions mimicking vascular stenosis were simulated in a closed-loop system equipped with a peristaltic pump using a narrow channel (diameter 0.7 mm), generating shear rates (γ) of 1000, 3000, and 5000 s^{-1}. Control experiments were performed under low-shear conditions in a wider channel (diameter 3 mm). von Willebrand factor activity (vWF Act, %) was measured after one and two circulation cycles. **Results.** Under control conditions, the reduction in VWF activity was minimal, decreasing to 69.2% after two circulation cycles. In stenosis-like channels, a pronounced decrease in VWF activity was observed, with the magnitude depending on shear rate: 65.1% at $\gamma = 1000\ s^{-1}$, 63.6% at $\gamma = 3000\ s^{-1}$, and 62.6% at $\gamma = 5000\ s^{-1}$. The most substantial decline occurred after the first passage through the stenotic segment. At the highest shear rate ($\gamma = 5000\ s^{-1}$), microscopic analysis revealed the formation of platelet aggregates. **Conclusion.** The study demonstrates that increasing shear rate leads to enhanced activation and proteolytic degradation of VWF, primarily due to the loss of high-molecular-weight multimers. These findings highlight the critical role of hydrodynamic conditions in the development of hemostatic disturbances associated with vascular stenoses and mechanical circulatory support systems. Incorporating the assessment of VWF activity and multimer distribution into testing protocols for vascular prostheses and extracorporeal devices may improve prediction of their hemocompatibility.

Keywords: von Willebrand factor, ADAMTS-13, shear stress, mechanical circulatory support, vascular prostheses, hemocompatibility.

ВВЕДЕНИЕ

Устройства механической поддержки кровообращения (МПК) – экстракорпоральная мембранная оксигенация, левожелудочковые вспомогательные устройства (ЛЖВУ) непрерывного потока и перкутанные насосы – значительно улучшили выживаемость больных с терминальной сердечной недостаточностью [1–4]. Вместе с тем распространение этих технологий выявило устойчивый спектр гемосовместимых неблагоприятных событий, где доминируют желудочно-кишечные кровотечения и цереброваскулярные осложнения [5–7].

За последнее десятилетие стало очевидно, что центральным биомеханическим «узлом» этих осложнений является фактор фон Виллебранда (ФВ): именно он первым встречает сдвиговые и экстенсионные нагрузки потока, изменяет конформацию, теряет высокомолекулярные мультимеры (ВММ) под действием металлопротеиназы ADAMTS-13 и тем самым перестраивает хрупкое равновесие между кровоточивостью и тромбообразованием [8].

Фактор фон Виллебранда – это крупный мультимерный гликопротеин, кодируемый геном на коротком плече 12-й хромосомы (12p13.3) [9]. Он синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах, а его ключевая функция заключается в обеспечении адгезии тромбоцитов к субэндотелию поврежденного сосуда и формировании первичного гемостатического сгустка. При этом мультимеры ФВ связываются как с коллагеном матрикса, так и с рецептором GPIbα на поверхности тромбоцитов.

Регулятором активности ФВ выступает ADAMTS-13, синтезируемая преимущественно звездчатыми клетками печени, а также в меньшей степени эндотелием и клетками нервной ткани. Этот фермент расщепляет мультимеры ФВ на более короткие формы с пониженной тромбогенной активностью. Таким образом, баланс ФВ/ADAMTS-13 играет ключевую роль в поддержании равновесия между активацией свертывания и фибринолизом [10, 11].

Экспериментальные работы показали, что диапазон скоростей сдвига (градиент тангенциальной скорости потока поперек слоя) в системе кровообращения может быть весьма широким и достигать 2000 $с^{-1}$ [12]. При этом физиологические значения γ колеблются: в венах – 15–200 $с^{-1}$, в артериях – 286–1142 $с^{-1}$, в артериолах – 450–2000 $с^{-1}$ [13, 14]. Исследования демонстрируют, что при умеренных значениях скорости сдвига (360–3000 $с^{-1}$) размер формирующихся агрегатов тромбоцитов возрастает и может превышать 200 $мкм^2$, однако при экстремально

высоких (>6000 $с^{-1}$) он, напротив, уменьшается ниже 100 $мкм^2$, что связывают с деградацией длинных мультимеров ФВ под действием ADAMTS-13 [15].

Биомеханика циркуляции определяет функциональное состояние ФВ: сдвиговые и экстенсионные напряжения способны вызывать конформационные перестройки мультимеров, облегчая их адгезивную активность и делая молекулу уязвимой к протеолизу ADAMTS-13 [5, 16–18]. В клинике это проявляется парадоксальным сочетанием кровоточивости и тромботических событий у пациентов с выраженными стенозами, а также при использовании устройств механической поддержки кровообращения [16, 17, 19–21].

У пациентов с HeartMate (HM) уже в ранний послеоперационный период (первые 40–60 дней) фиксируется падение функциональных индексов ФВ – соотношений ФВ : Активность/антиген (Act/Ag) и ФВ : коллаген-связывающая активность (CB/Ag) – с ≈0,94–0,95 до ≈0,66–0,67; критический порог ≤0,70 достоверно предсказывает будущие желудочно-кишечные кровотечения (ЖКК) и геморрагические инсульты при последующей поддержке, тогда как риск ишемического инсульта парадоксально снижается на фоне дефицита ВММ-ФВ. Эти наблюдения подтверждены строгими моделями выживания и кривыми Каплана–Мейера и предлагают удобный ранний маркер стратификации риска у реципиентов HM [8].

Клиническая значимость деградации ФВ при МПК подтверждается и более широкими когортами. Систематический обзор и метаанализ для ЛЖВУ показал, что приобретенный синдром фон Виллебранда – феномен длительной поддержки непрерывным потоком: потеря ВММ фиксируется в 80–100% случаев и тесно связана с ЖКК, включая кровотечения из ангиодисплазий. Это подчеркивает необходимость регулярного мониторинга мультимерной структуры и функциональных соотношений ФВ у пациентов с устройствами постоянного потока [22]. При длительной поддержке формируется дисбаланс оси ФВ–ADAMTS-13 (утрата ВММ на фоне нередко сниженной активности ADAMTS-13), что достоверно ассоциировано с ростом геморрагических исходов [5, 6].

Ключевой механизм подобных состояний – сдвиг- и растяжение-индуцированная конформационная активация ФВ с последующим протеолизом домена A2. Недавние экспериментально-численные работы уточнили, что повреждающий потенциал определяется не только усредненной величиной напряжения сдвига, но и режимом течения, а также временем экспозиции. В ламинарном режиме значимое уменьшение ВММ не наблюдается даже при длительной экспозиции, тогда как при турбулентном потоке уже десятки миллисекунд приводят к существенной утрате ВММ-ФВ. Следовательно, история локальных пиков напряжений вдоль траектории молекулы важнее одной усредненной метрики: безопасный в среднем поток может содержать «карманы» экстремального напряжения сдвига, определяющие повреждение ФВ [23].

Степень повреждения ФВ при одинаковых гидродинамических условиях индивидуально вариабельна. Показано, что у части пациентов ВММ разрушаются быстрее, и именно эта «хрупкость» ФВ ассоциируется с более высокой частотой кровотечений [24].

Синтетические протезы кровеносных сосудов и стент-трансплантаты также создают сложные поля скоростей и деформаций (локальные стенозы, разрывы пульсации, шероховатость поверхности), где экстенсионные и сдвиговые пики способны инициировать конформационное раскрытие ФВ и его протеолиз [22, 27, 28]. Экспериментальные микрофлюидные и численные работы показывают: даже при «нормальном» среднем напряжении сдвига локальные пиковые нагрузки и турбулентные вкрапления могут задавать критическую «историю напряжений» для молекулы ФВ. Следовательно, расчет и контроль параметров потока (скорость сдвига, экстенсионная деформация, время экспозиции, режим течения) в стендах испытаний сосудистых протезов и клапанных имплантатов – обязательное условие достоверного прогноза гемосовместимости и тромбогенности поверхности [22, 29].

Таким образом, совокупность данных указывает на то, что именно механические характеристики кровотока – скорость сдвига, турбулентность, экстенсионное напряжение – выступают определяющими факторами активации и деградации ФВ. В результате нарушается равновесие с ADAMTS-13, что может способствовать развитию тромботических осложнений у пациентов с врожденными пороками сердца и при использовании искусственных систем циркуляции. Это делает дальнейшее изучение взаимодействия ФВ и ADAMTS-13 в условиях измененной гемодинамики не только актуальным, но и крайне перспективным направлением для поиска прогностических маркеров и оптимизации терапевтических стратегий.

Цель настоящей работы – в контролируемых условиях *in vitro* количественно оценить чувствительность активности ФВ (vWF Act, %) к заданным диапазонам сдвигового напряжения, моделирующим стеноз-подобные геометрии, и соотнести полученную динамику с литературными данными о механочувствительности ФВ и тромбоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали свежую обогащенную тромбоцитами плазму (PRP), подготовленную из цельной крови одного донора на один опыт (центрифугирование 150 g; отбор верхнего слоя). До начала циркуляции фиксировали исходные значения активности ФВ, % и активность ADAMTS-13. Выбор PRP

минимизировал оптические артефакты эритроцитов и исключал вклад гемолиза в активацию [7, 18]. Серия включала 10 опытов.

Образцы крови были получены от взрослых доноров/добровольцев (≥18 лет) службы крови НМИЦ ССХ им А.Н. Бакулева МЗ РФ по стандартной процедуре венепункции. Перед забором все участники подписывали информированное согласие на использование части материала в целях биомедицинских исследований без передачи персональных данных. Забор, обработка и утилизация биоматериала проводились в условиях биобезопасности уровня BSL-2 с соблюдением правил асептики и антисептики.

С использованием аддитивных технологий был разработан стенд для моделирования гемодинамических воздействий, представляющий собой замкнутый контур с перистальтическим насосом и водяной баней (37 °C). В качестве тестовой вставки применялась полипропиленовая трубка с локальным сужением (вне стеноза диаметр 3 мм, в стенотическом сегменте – 0,7 мм), имитирующая гемодинамические условия стенотических пороков сердца. Полипропилен был выбран благодаря своей инертности и биосовместимости. Экспериментальная модель была ориентирована на ламинарное течение в идеализированных цилиндрических каналах и аппроксимировала плазму ньютоновской жидкостью; пульсация, турбулентные переходы и сложная геометрия реальных контуров сосудистой системы не учитывались.

Пробирки с плазмой и участки магистралей, где это возможно, были погружены в термостат для исключения охлаждения плазмы во время опытов.

В ходе эксперимента формировали три целевые скорости сдвига в зоне сужения: γ = 1000; 3000; 5000 $с^{-1}$. Контроль соответствовал тем же расходам в канале D = 3 мм, при этом скорость сдвига составила ≈13 $с^{-1}$. Для каждого канала выполняли последовательный отбор проб плазмы для дальнейших микрокопирования и анализа: 0 – сразу после прохождения вставки (первичное воздействие), 1 – после одного полного цикла циркуляции, 2 – после двух циклов. Измеряемый показатель – активность ФВ, %.

Для количественного описания гидродинамических условий в установке ниже приведены базовые соотношения для установившегося ламинарного течения несжимаемой жидкости в цилиндрическом канале. Эти формулы связывают геометрию и режим потока (диаметр, скорость сдвига, средняя скорость, расход и число Рейнольдса) и позволяют сопоставлять гидродинамику с конформационными изменениями vWF. Скорость сдвига определяется по формуле:

$$\gamma = 8V/D \text{ или } V = \gamma \cdot D/8,$$

где γ – скорость сдвига ($с^{-1}$); D – диаметр канала (м); V – средняя скорость потока (м/с).

Расход определяется формулой:

$$Q = V \cdot A,\ A = \pi \cdot D^2/4,$$

где Q – расход ($м^3$/с); V – средняя скорость (м/с); A – площадь поперечного сечения ($м^2$); D – диаметр трубы (мм).

Число Рейнольдса определяется формулой:

$$Re = \rho \cdot V \cdot D/\mu,$$

где Re – число Рейнольдса (безразмерное); ρ – плотность жидкости ($кг/м^3$); V – средняя скорость потока (м/с); D – диаметр канала (м); μ – динамическая вязкость (Па·с) [30–32].

Статистическая обработка данных выполнена параметрическими и непараметрическими методами; подготовка и визуализация данных – в Microsoft Excel 2016, анализ – в IBM SPSS Statistics 26 (IBM Corp.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе эксперимента изучалась динамика активности фактора фон Виллебранда в условиях моделируемого гемодинамического воздействия.

Диаметр канала без стенотического участка: D = 3 мм = 0,003 м. Скорость сдвига $\gamma \approx 12{,}7$ $с^{-1}$. Напряжение сдвига $\tau \approx 0{,}015$ Па ≈ 0,152 $дин/см^2$. Число Рейнольдса Re ≈ 12,2° (плазма, ламинарный поток). Диаметр канала со стенотическим участком: D = 0,7 мм = 0,0007 м. Для различных скоростей сдвига в таблице определены значения параметров.

Эти величины попадают в диапазон, критичный для раскрытия доменов ФВ и усиления его адгезии [7, 17, 18].

Исходный уровень активности ФВ во всех пробах составил 72,4%.

В контрольных условиях (B0), при циркуляции плазмы через трубку диаметром 3 мм, имитирующую физиологический просвет сосуда без стеноза, снижение активности было минимальным: 71,4% после одного цикла и 69,2% после двух. Этот результат подтверждает, что в нормальных гидродинамических условиях активность ФВ остается стабильной и не подвергается значимой деградации.

Таблица

Значения параметров несжимаемой жидкости в цилиндрическом канале

Hemodynamic parameters of an incompressible fluid in a cylindrical channel

Скорость сдвига γ ($с^{-1}$)	Средняя скорость V (м/с)	Расход Q (мл/ч)	Re для крови	Re для плазмы
5000	0,4375	605	271	262
3000	0,2625	364	163	157
1000	0,0875	121	54	52

При моделировании сужения просвета до 0,7 мм наблюдалась иная картина.

γ = 1000 с$^{-1}$: 71,0% (1 цикл) → 65,1% (2 цикла);
γ = 3000 с$^{-1}$: 64,9% (1 цикл) → 63,6% (2 цикла);
γ = 5000 с$^{-1}$: 68,8% (1 цикл) → 62,6% (2 цикла).

Общая закономерность: основное падение активности ФВ происходит при первом прохождении через сужение; повторные циклы усиливают эффект. В серии из десяти опытов вариабельность результатов не влияла на качественные выводы.

Помимо определения активности ФВ были проанализированы образцы плазмы, отобранные в разные временные точки эксперимента; затем их окрасили и изучили методом световой микроскопии. На серии микрофотографий нативная богатая тромбоцитами плазма (PRP) демонстрирует равномерно распределенные по полю зрения тромбоциты без признаков устойчивого агрегирования (рис. 1).

Плазма, циркулировавшая в экспериментальной системе без задания ускорения/сдвига, сохраняет сопоставимую морфологию – равномерно распределенные тромбоциты (рис. 2).

При воздействии градиентов сдвига 1000 и 3000 с$^{-1}$ формирования отчетливых клеточных конгломератов не наблюдалось: распределение клеточных элементов в целом оставалось близким к нативному образцу (рис. 3 и 4).

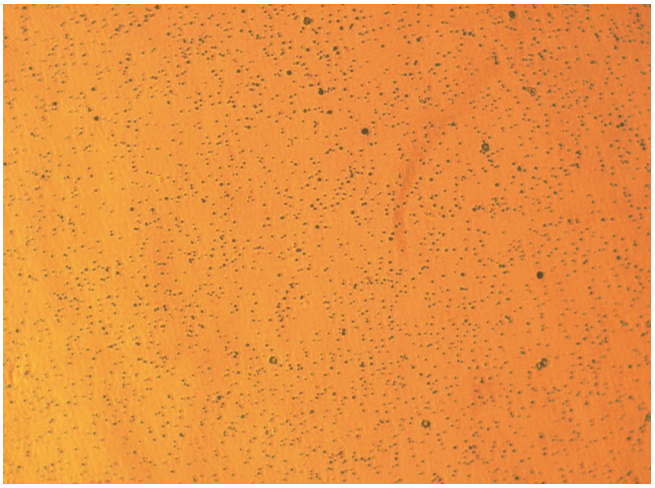


Рис 1. Нативная плазма до опыта

Fig. 1. Native plasma before the experiment

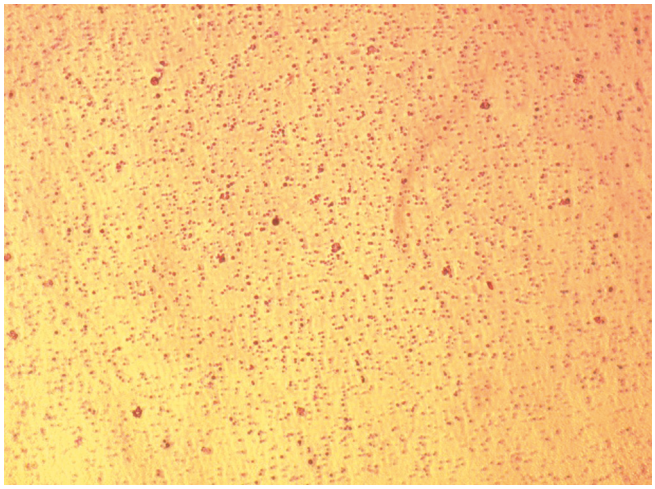


Рис 2. Плазма, которая циркулировала в опытной системе с физиологическим уровнем напряжения сдвига (менее 100 с$^{-1}$) в течение 2 циклов

Fig. 2. Plasma circulated in the experimental system at a physiological shear rate (<100 s^{-1}) for two circulation cycles

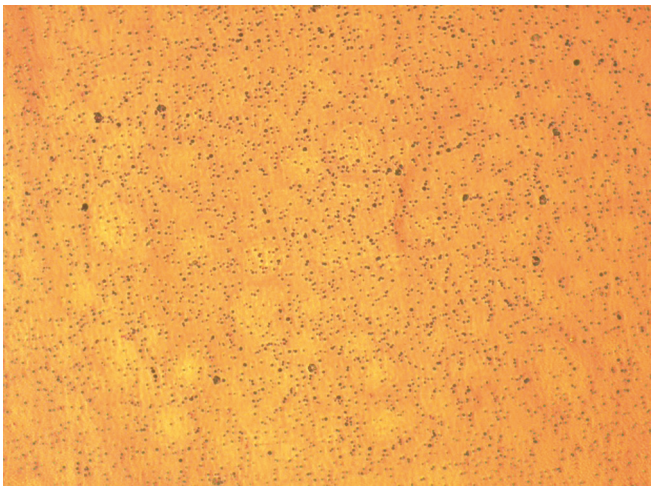


Рис 3. Плазма, подвергнутая напряжению сдвига 1000 с$^{-1}$ в течение 2 циклов

Fig. 3. Plasma subjected to a shear rate of 1000 s^{-1} for two circulation cycles

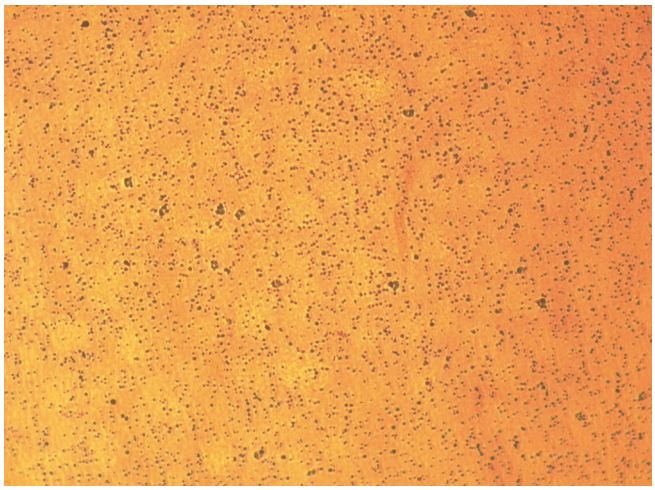


Рис 4. Плазма, подвергнутая напряжению сдвига 3000 с$^{-1}$ в течение 2 циклов

Fig. 4. Plasma subjected to a shear rate of 3000 s^{-1} for two circulation cycles

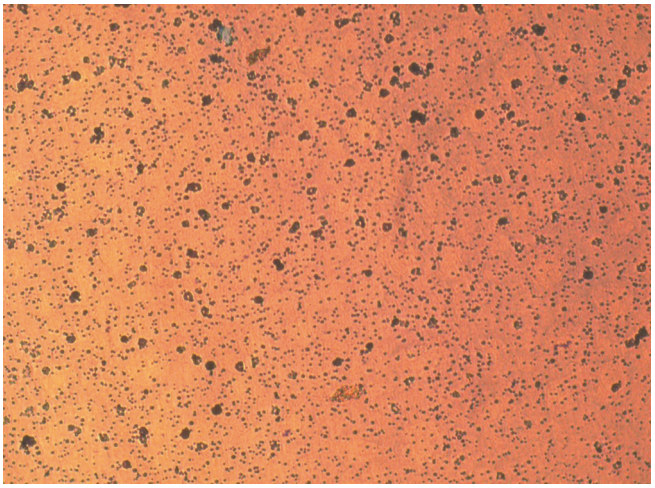


Рис 5. Плазма, подвергнутая напряжению сдвига 5000 $с^{-1}$ в течение 1 цикла

Fig. 5. Plasma subjected to a shear rate of 5000 s^{-1} for one circulation cycle

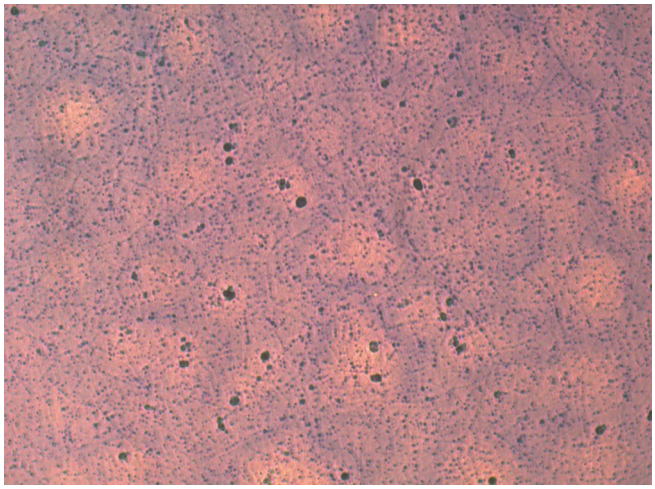


Рис 6. Плазма, подвергнутая напряжению сдвига 5000 $с^{-1}$ в течение 2 циклов

Fig. 6. Plasma subjected to a shear rate of 5000 s^{-1} for two circulation cycles

В отличие от этого при экспозиции к сдвигу 5000 $с^{-1}$ – как после одного, так и после двух циклов – визуализируются выраженные конгломераты в большом количестве, морфологически соответствующие агрегатам тромбоцитов (рис. 5 и 6).

Эти наблюдения согласуются с гипотезой о том, что при высоких градиентах сдвига происходит активация ФВ и реализация его адгезивной функции, способствующая GPIb-опосредованной адгезии и последующей агрегации тромбоцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты демонстрируют, что функциональная активность ФВ зависимо снижается по мере роста скорости сдвига в плазме, причем «быстрый» компонент убыли возникает уже на первом проходе через стенотический участок.

На уровне молекулярной механики это согласуется с избирательной потерей наиболее адгезивно активных, крупных по размеру мультимеров ФВ и повышенной уязвимостью раскрытых доменов к протеолизу ADAMTS-13 [6–8]. Наши данные количественно подтверждают «механическую фильтрацию» мультимеров стеноз-подобными геометриями.

Полученные данные позволяют рассматривать гемодинамическое воздействие не только как экспериментальный фактор, но и как универсальный механизм, имеющий непосредственное отношение к клинической практике. Высокие значения скорости сдвига и экстенсионного напряжения, возникающие в зонах стенозов или в искусственных каналах медицинских устройств, приводят к активации и последующей деградации фактора фон Виллебранда. Этот процесс лежит в основе нарушений гемостаза, объединяющих кровоточивость и тромбообразование у пациентов с клапанными пороками и при применении систем механической поддержки кровообращения.

На начальном этапе избыточная активация ФВ приводит к тромбоэмболическим осложнениям у пациента, однако со временем, по мере деградации данного белка, развивается склонность к кровотечениям.

Адекватная оценка гидродинамических свойств устройств позволяет глубже понять механизмы адгезии и агрегации тромбоцитов на их поверхности. Это открывает возможность для оптимизации конструкции и повышения биосовместимости медицинских изделий, работающих в условиях прямого контакта с кровью (протезы кровеносных сосудов, кардиохирургические заплаты, протезы клапанов сердца, стенты, устройства механической поддержки кровообращения и др.).

Обеспечение гемосовместимости и тромборезистентности остается одной из фундаментальных задач при разработке медицинских изделий, контактирующих с кровью. Несмотря на широкое применение системной антикоагулянтной терапии, риск тромбообразования на поверхности искусственных материалов сохраняется, что указывает на ограниченность фармакологической профилактики и необходимость инженерных решений на уровне интерфейса «материал–кровь».

В настоящее время отсутствует универсальный физико-химический параметр, позволяющий однозначно прогнозировать гемосовместимость материала. Это обусловлено высокой сложностью и нелинейной динамикой системы гемостаза, включающей взаимосвязанные процессы коагуляции, активации тромбоцитов и реологических изменений. Взаимодействие крови с чужеродной поверхностью представляет собой многоуровневый процесс, включающий адсорбцию белков, конформационные из-

менения биомолекул и активацию клеточных элементов, что затрудняет его полное моделирование и предсказание.

Одним из наиболее перспективных подходов к повышению тромборезистентности является направленная модификация поверхности изделий с использованием биологически активных молекул и полимерных систем. В ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России разработана технология, основанная на формировании функциональных покрытий с учетом физико-химических процессов, протекающих на границе раздела фаз «твердое тело–кровь», что позволяет управлять структурой и свойствами модифицирующего слоя на наноуровне.

Предложенный подход обеспечивает образование стабильных нанослоев интерполимерных комплексов, содержащих биологически активные компоненты, с высокой степенью фиксации на поверхности и минимальной десорбцией в кровоток. Это приводит к значимому повышению гемосовместимости и снижению тромбогенного потенциала широкого спектра медицинских изделий, включая сосудистые протезы, стенты, катетеры, кава-фильтры, стент-графты и другие устройства, предназначенные для кратковременного и длительного контакта с кровью [33, 34].

Особого внимания заслуживают исследования, посвященные осложнениям экстракорпоральных методов лечения. В публикациях последних лет показано, что именно высокомолекулярные мультимеры ФВ играют ключевую роль в нарушении работы оксигенаторов ЭКМО и в формировании тромбов в системах искусственного левого желудочка. Фибриллы ФВ адгезируют на мембранах оксигенаторов и в каналах устройств, формируя очаги активации тромбоцитов и создавая угрозу тромбирования. Это подчеркивает, что контроль параметров потока и понимание механики деградации ФВ имеют не только фундаментальное, но и прикладное значение при оценке надежности и биосовместимости медицинских устройств, работающих в кровотоке [35].

Таким образом, наши данные, в сумме с результатами международных исследований, подтверждают, что гемодинамическая нагрузка является ключевым фактором активации и деградации ФВ [36, 37].

В совокупности это указывает на необходимость точного расчета и контроля параметров потока при разработке и испытаниях сосудистых протезов, клапанных имплантатов и экстракорпоральных устройств, для прогнозирования процессов тромбообразования и минимизации рисков агрегации тромбоцитов на их поверхности.

ВЫВОДЫ

В условиях проведенного эксперимента установлено, что активность фактора фон Виллебранда снижается пропорционально увеличению скорости сдвига, при этом максимальное повреждение белка наблюдается при значениях порядка 5000 $с^{-1}$, что согласуется с клиническими данными о его высокой чувствительности к экстремальным гемодинамическим условиям, в частности при тяжелых стенозах аорты.

Показано, что даже умеренные напряжения сдвига в диапазоне 1000–3000 $с^{-1}$ вызывают достоверное снижение активности ФВ уже после одного цикла циркуляции, тогда как последующие циклы лишь усиливают данный эффект, при этом основное повреждение происходит при первичном прохождении крови через участок сужения. Полученные результаты подтверждают гипотезу о ключевой роли гемодинамической нагрузки в процессах активации и деградации ФВ, что имеет принципиальное значение для понимания патогенеза тромбообразования при стенотических пороках сердца, а также при использовании устройств механической поддержки кровообращения. В связи с этим показано, что точный расчет и контроль параметров потока, включая скорость и напряжение сдвига, а также число Рейнольдса, являются обязательными при испытаниях сосудистых протезов, клапанных имплантатов, насосов и оксигенаторов, при этом оценка активности ФВ, мультимерного профиля и тромбоцитарной адгезии должна входить в расширенную панель функциональных тестов. Кроме того, установлено, что детальный анализ гидродинамических характеристик медицинских устройств необходим для понимания механизмов тромбоцитарной агрегации на их поверхности, поскольку геометрия каналов (диаметры, степени сужения, радиусы поворотов), микротопография поверхности (включая параметры шероховатости и aspect ratio), режимы работы насосов и температурный контроль напрямую влияют на степень деградации ФВ, что требует их обязательной регламентации в технических заданиях и нормативных рекомендациях с целью повышения биосовместимости имплантатов и эффективности систем механической поддержки кровообращения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В контролируемом *in vitro* эксперименте активность ФВ зависимо снижалась при увеличении скорости сдвига в стеноз-подобной геометрии; основной «провал» фиксировался при первом прохождении через зону сужения. Результаты согласуются с механосенситивностью ФВ и тромбоцитов, описанной в микрофлюидных и моделирующих работах, и подчеркивают необходимость точного расчета и контроля гидродинамических параметров при разработке и валидации устройств, контактирующих с кровью. Такой подход улучшает прогноз тромбообразования и повышает биосовместимость изделий.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Грудинин НВ, Богданов ВК, Бучнев АС, Есипова ОЮ*. Разработка экстракорпорального насоса для системы ЭКМО. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024; 26 (4): 133–139. *Grudinin NV, Bogdanov VK, Buchnev AS, Esipova OYu*. Development of an extracorporeal pump for the ECMO system. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024; 26 (4): 133–139. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2024-4-149-156.
2. *Кулешов АП, Иткин ГП, Байбиков АС*. Разработка центробежного насоса канального типа. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (3): 32–39. *Kuleshov AP, Itkin GP, Baybikov AS*. Development of a channel-type centrifugal pump. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (3): 32–39. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-3-32-39.
3. *Кулешов АП, Иткин ГП, Бучнев АС, Дробышев АА*. Математическая оценка гемолиза канального центробежного насоса. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (3): 79–85. *Kuleshov AP, Itkin GP, Buchnev AS, Drobyshev AA*. Mathematical evaluation of hemolysis of a channel centrifugal pump. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (3): 79–85. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-3-79-85.
4. *Иткин ГП, Дмитриева ОЮ, Бучнев АС, Дробышев АА, Кулешов АП, Волкова ЕА и др*. Результаты экспериментальных исследований детского осевого насоса «ДОН-3». *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2018; 20 (2): 61–68. *Itkin GP, Dmitrieva OYu, Buchnev AS, Drobyshev AA, Kuleshov AP, Volkova EA et al*. Results of experimental studies of the pediatric axial pump «DON-3». *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2018; 20 (2): 61–68. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2018-2-61-68.
5. *Mei X, Lu B, Wu P, Zhang L*. *In vitro* study of red blood cell and VWF damage in mechanical circulatory support devices based on blood-shearing platform. *Proc Inst Mech Eng H*. 2022 Jun; 236 (6): 860–866. doi: 10.1177/09544119221088420.
6. *Naveed A, Naveed B, Khan MA, Asif T*. Gastrointestinal bleeding in recipients of left ventricular assist devices – a systematic review. *Heart Fail Rev*. 2023 Sep; 28 (5): 1163–1175. doi: 10.1007/s10741-023-10313-6.
7. *Pham OL, Feher SE, Nguyen QT, Papavassiliou DV*. Distribution and history of extensional stresses on vWF surrogate molecules in turbulent flow. *Sci Rep*. 2022 Jan 7; 12 (1): 171. doi: 10.1038/s41598-021-04034-9.
8. *Jahangiri P, Veen KM, van Moort I, Bunge JH, Constantinescu A, Sjatskig J et al*. Early Postoperative Changes in Von Willebrand Factor Activity Are Associated With Future Bleeding and Stroke in HeartMate 3 Patients. *ASAIO J*. 2025 Jan 1; 71 (1): 27–35. doi: 10.1097/MAT.0000000000002250.
9. *Rauch A, Susen S, Zieger B*. Acquired von Willebrand Syndrome in Patients With Ventricular Assist Device. *Front Med (Lausanne)*. 2019 Feb 5; 6: 7. doi: 10.3389/fmed.2019.00007.
10. *Porter S, Clark IM, Kevorkian L, Edwards DR*. The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J*. 2005 Feb 15; 386 (Pt 1): 15–27. doi: 10.1042/BJ20040424.
11. *Waldow HC, Westhoff-Bleck M, Widera C, Templin C, von Depka M*. Acquired von Willebrand syndrome in adult patients with congenital heart disease. *Int J Cardiol*. 2014 Oct 20; 176 (3): 739–745. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.07.104.
12. *Truskey GA, Yuan F, Katz DF*. Transport Phenomena in Biological Systems. 2nd ed. Pearson/Prentice Hall; 2009. ISBN: 978-0131569881. 888 p.
13. *Sakariassen KS, Orning L, Turitto VT*. The impact of blood shear rate on arterial thrombus formation. *Future Sci OA*. 2015 Nov 1; 1 (4): FSO30. doi: 10.4155/fso.15.28.
14. *Gogia S, Neelamegham S*. Role of fluid shear stress in regulating VWF structure, function and related blood disorders. *Biorheology*. 2015; 52 (5–6): 319–335. doi: 10.3233/BIR-15061.
15. *Chan CHH, Inoue M, Ki KK, Murashige T, Fraser JF, Simmonds MJ et al*. Shear-dependent platelet aggregation size. *Artif Organs*. 2020 Dec; 44 (12): 1286–1295. doi: 10.1111/aor.13783.
16. *Vincent F, Rauch A, Spillemaeker H, Vincentelli A, Paris C, Rosa M et al*. Real-Time Monitoring of von Willebrand Factor in the Catheterization Laboratory: The Seatbelt of Mini-Invasive Transcatheter Aortic Valve Replacement? *JACC Cardiovasc Interv*. 2018 Sep 10; 11 (17): 1775–1778. doi: 10.1016/j.jcin.2018.05.047.
17. *Bańka P, Wybraniec M, Bochenek T, Gruchlik B, Burchacka A, Swinarew A et al*. Influence of Aortic Valve Stenosis and Wall Shear Stress on Platelets Function. *J Clin Med*. 2023 Sep 29; 12 (19): 6301. doi: 10.3390/jcm12196301.
18. *Dong C, Kania S, Morabito M, Zhang XF, Im W, Oztekin A et al*. A mechano-reactive coarse-grained model of the blood-clotting agent von Willebrand factor. *J Chem Phys*. 2019 Sep 28; 151 (12): 124905. doi: 10.1063/1.5117154.
19. *Shiraishi Y, Tachizaki Y, Inoue Y, Hayakawa M, Yamada A, Kayashima M et al*. Hemolysis and von Willebrand factor degradation in mechanical shuttle shear flow tester. *J Artif Organs*. 2021 Jun; 24 (2): 111–119. doi: 10.1007/s10047-020-01219-3.
20. *Кулешов АП, Грудинин НВ, Бучнев АС, Еленкин ВА, Шилкин ДН, Богданов ВК*. Оценка гемолиза крови при оптимизации крыльчатки центробежного насоса ROTAFLOW. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (3): 117–124. *Kuleshov AP, Grudinin NV, Buchnev AS, Elenkin VA, Shilkin DN, Bogdanov VK*. Evaluation of blood hemolysis during optimization of the ROTAFLOW centrifugal pump impeller. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (3): 117–124. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-3-117-124.
21. *Кулешов АП, Грудинин НВ, Бучнев АС*. Оптимизация ротора центробежного насоса ROTAFLOW. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (3): 125–113. *Kuleshov AP, Grudinin NV, Buchnev AS*. Optimization of the ROTAFLOW centrifugal pump rotor. *Russian Journal of Transplantology and*

Artificial Organs. 2025; 27 (3): 125–113. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2025-3-125-133.

22. *Wang Y, Nguyen KT, Ismail E, Donoghue L, Giridharan GA, Sethu P et al*. Effect of pulsatility on shear-induced extensional behavior of Von Willebrand factor. *Artif Organs*. 2022 May; 46 (5): 887–898. doi: 10.1111/aor.14133.
23. *Jhun CS, Xu L, Siedlecki C, Bartoli CR, Yeager E, Lukic B et al*. Kinetic and Dynamic Effects on Degradation of von Willebrand Factor. *ASAIO J*. 2023 May 1; 69 (5): 467–474. doi: 10.1097/MAT.0000000000001848.
24. *Hennessy-Strahs S, Kang J, Krause E, Dowling RD, Rame JE, Bartoli CR*. Patient-specific severity of von Willebrand factor degradation identifies patients with a left ventricular assist device at high risk for bleeding. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2024 Jan; 167 (1): 196–204. doi: 10.1016/j.jtcvs.2022.03.018.
25. *Есипова ОЮ, Богданов ВК, Есипов АС, Кулешов АП, Бучнев АС, Волкова ЕА и др*. Разработка нового малообъемного оксигенатора и создание гидродинамического стенда для *ex vivo* перфузии легких на мелких животных. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (3): 106–112. *Esipova OYu, Bogdanov VK, Esipov AS, Kuleshov AP, Buchnev AS, Volkova EA et al*. Development of a new low-volume oxygenator and creation of a hydrodynamic stand for *ex vivo* lung perfusion in small animals. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023; 25 (3): 106–112. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2024-3-176-182.
26. *Есипова ОЮ, Бучнев АС, Дробышев АА, Кулешов АП, Грудинин НВ, Богданов ВК*. Оценка производительности трансфера кислорода малогабаритного мембранного оксигенатора. *Медицинская техника*. 2023; 4 (340): 21–25. *Esipova OYu, Buchnev AS, Drobyshev AA, Kuleshov AP, Grudinin NV, Bogdanov VK*. Performance Evaluation of Oxygen Transfer of a Small-Sized Membrane Oxygenator. *Biomedical Engineering*. 2023; 4 (340): 21–25.
27. *Itkin GP, Bychnev AS, Kuleshov AP, Drobyshev AA*. Haemodynamic evaluation of the new pulsatile-flow generation method *in vitro*. *Int J Artif Organs*. 2020 Mar; 43 (3): 157–164. doi: 10.1177/0391398819879939.
28. *Бучнев АС, Кулешов АП, Есипова ОЮ, Дробышев АА, Грудинин НВ*. Гемодинамическая оценка устройства генерации пульсирующего потока в системах обхода левого желудочка сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (1): 106–112. *Buchnev AS, Kuleshov AP, Esipova OYu, Drobyshev AA, Grudinin NV*. Hemodynamic evaluation of a pulsating flow generation device in left ventricular assist systems. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023; 25 (1): 106–112. https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-3-69-75.
29. *Pham OL, Feher SE, Nguyen QT, Papavassiliou DV*. Computations of the shear stresses distribution experienced by passive particles as they circulate in turbulent flow: A case study for vWF protein molecules. *PloS One*. 2022; 17 (8): e0273312. doi: 10.1371/journal.pone.0273312.
30. *Хайрисламов КЗ*. Течение Пуазейля для жидкости с переменной вязкостью. *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия «Математика. Механика. Физика»*. 2013; 5 (2): 170–173. *Khairislamov KZ*. Techenie Puazeilya dlya zhidkosti s peremennoi vyazkost'yu. *Vestnik Yuzhno-Uralskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya «Matematika. Mekhanika. Fizika»*. 2013; 5 (2): 170–173.
31. *Казаков ЛИ*. Развитие течения Пуазейля в круглой трубе. – Деп. в ВИНИТИ РАН 07.10.2019, № 80-В2019. 32 с. *Kazakov LI*. Razvitie techeniya Puazeilya v krugloi trube. 2019 Oct 7; (80-V2019); 32.
32. *Holmes AP, Ray CJ, Kumar P, Coney AM*. A student practical to conceptualize the importance of Poiseuille's law and flow control in the cardiovascular system. *Adv Physiol Educ*. 2020 Sep 1; 44 (3): 436–443. doi: 10.1152/advan.00004.2019.
33. *Бокерия ЛА, Новикова СП*. Протезы кровеносных сосудов и кардиохирургические заплаты с тромборезистентными, антимикробными свойствами и нулевой хирургической пористостью. *Сердечно-сосудистые заболевания. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН*. 2008; 9 (4): 5–20. *Bokeriya LA, Novikova SP*. Protezy krovenosnykh sosudov i kardiohirurgicheskie zaplaty s tromboresistentnymi, antimikrobnymi svoistvami i nulevoi khirurgicheskoi poristost'yu. *Serdechno-sosudistye zabolevaniya. Byulleten' NTsSSKh im. A.N. Bakuleva RAMN*. 2008; 9 (4): 5–20.
34. *Салохединова РР, Новикова СП, Орлова АА, Цыганков ЮМ, Сергеев АА, Афанасьева ЕА*. Оценка тромборезистентности протезов кровеносных сосудов с модифицирующим гепариновым покрытием. *Сердечно-сосудистые заболевания. Бюллетень НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН*. 2023; 24 (4): 337–346. *Salokhedinova RR, Novikova SP, Orlova AA, Tsygankov YuM, Sergeev AA, Afanas'eva EA*. Otsenka tromboresistentnosti protezov krovenosnykh sosudov s modifitsiruyushchim geparinovym pokrytiem. *Serdechno-sosudistye zabolevaniya. Byulleten' NTsSSKh im. A.N. Bakuleva RAMN*. 2023; 24 (4): 337–346. doi: 10.24022/1810-0694-2023-24-4-337-346.
35. *Steiger T, Foltan M, Philipp A, Mueller T, Gruber M, Bredthauer A et al*. Accumulations of von Willebrand factor within ECMO oxygenators: Potential indicator of coagulation abnormalities in critically ill patients? *Artif Organs*. 2019 Nov; 43 (11): 1065–1076. doi: 10.1111/aor.13513.
36. *Liu L, Chen S, Hu D, Zhu Y, Wu C, Liu A et al*. Von Willebrand factor in ECMO: a dynamic modulator of hemorrhage and thrombosis. *Shock*. 2025 Sep 1; 64 (3): 291–302. doi: 10.1097/SHK.0000000000002632.
37. *Van Den Helm S, Letunica N, Barton R, Weaver A, Yaw HP, Karlaftis V et al*. Changes in von Willebrand Factor Multimers, Concentration, and Function During Pediatric Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Pediatr Crit Care Med*. 2023 Apr 1; 24 (4): 268–276. doi: 10.1097/PCC.0000000000003152.

Статья поступила в редакцию 19.03.2026 г.
The article was submitted to the journal on 19.03.2026

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-227-237

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ И КСЕНОГЕННЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ЦИРКУЛЯРНОГО ДЕФЕКТА КИШКИ

И.М. Насибуллин[1], Р.Р. Хасанов[1, 2], А.И. Лебедева[1], О.Р. Шангина[1], В.Н. Павлов[1], Д.Е. Халилов[1]

[1] ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Российская Федерация

[2] Клиника детской хирургии медицинского факультета Мангейм Университета Гайдельберг, Гайдельберг, Федеративная Республика Германия

Целью работы явилось исследование регенераторных свойств аллогенных и ксеногенных биоматериалов для восстановления циркулярных дефектов кишки. **Материалы и методы.** В эксперименте использовали крыс-самцов линии Wistar половозрелых, возраст 1 год, вес 300 г (n = 98). В опытной группе животным (n = 49) трансплантировали аллогенный децеллюляризированный биоматериал, изготовленный из кишки крысы. В контрольной группе (n = 49) пересаживали ксеногенный биоматериал, изготовленный из кадаверной фиброзной капсулы почки человека. У крыс обеих групп была резецирована часть подвздошной кишки размером 30 мм, после чего в область дефекта помещали биоматериалы в виде трубки аналогичных размеров конец в конец. В последующем исследуемые биоматериалы подвергались децеллюляризации и морфологическим исследованиям. **Результаты.** В опытной группе через 2–3 месяца после трансплантации аллогенного децеллюляризированного биоматериала восстанавливалась архитектоника всех слоев стенки тонкой кишки, аллогенный биоматериал полностью резорбировался и замещался органоспецифическим регенератом. Верифицировано наличие кровеносных сосудов, нервных волокон и пейеровых бляшек. В контрольной группе после трансплантации ксеногенного биоматериала определялась смертность животных в 100% случаях в ранние сроки (7–14 сут) в связи с отторжением трансплантата и развитием выраженной иммунной воспалительной реакции в брюшной полости. **Заключение.** Использование предложенного метода в эксперименте достоверно способствует регенерации протяженного участка тонкой кишки от 30 мм, демонстрирует возможность восстановления кишечника со всеми структурными элементами, присущими кишечной стенке, и может быть применимо для лечения заболеваний, ассоциированных с СКК, воспалительно-деструктивными заболеваниями или для восполнения циркулярного дефекта после резекции кишки.

Ключевые слова: синдром короткой кишки, тонкий кишечник, аллогенные биоматериалы, ксеногенные трансплантаты, регенерация.

EXPERIMENTAL EVALUATION OF ALLOGENEIC AND XENOGENEIC BIOMATERIALS FOR REGENERATION OF CIRCULAR INTESTINAL DEFECTS

I.M. Nasibullin[1], R.R. Khasanov[1, 2], A.I. Lebedeva[1], O.R. Shangina[1], V.N. Pavlov[1], D.E. Khalilov[1]

[1] Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

[2] Heidelberg University, Heidelberg, Germany

Objective: to investigate the regenerative potential of allogeneic and xenogeneic biomaterials in the repair of circular bowel defects. **Materials and methods.** The study was conducted on sexually mature male Wistar rats (1 year old, weighing ~300 g; n = 98). In the experimental group (n = 49), allogeneic decellularized biomaterial

Для корреспонденции: Насибуллин Ильдар Марсович. Адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, 3. Тел. (905) 000-83-76. E-mail: nim_76@mail.ru

Corresponding author: Ildar Nasibullin. 3, Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation. Phone: (905) 000-83-76. E-mail: nim_76@mail.ru

(ADB) derived from rat bowel was implanted. In the control group (n = 49), xenogeneic biomaterial derived from the fibrous capsule of a human cadaveric kidney was used. In both groups, a 30-mm segment of the ileum was resected, and the biomaterials were implanted at the defect site as end-to-end tubular grafts of similar dimensions. The implanted biomaterials were subsequently subjected to decellularization and morphological analysis. **Results.** In the experimental group, 2–3 months after transplantation of ADB, the full architectural structure of the small bowel wall was restored. The implanted biomaterial was completely resorbed and replaced by an organ-specific regenerate, with confirmed presence of blood vessels, nerve fibers, and Peyer's patches. In the control group, transplantation of xenogeneic biomaterial resulted in 100% mortality within the early postoperative period (7–14 days), associated with graft rejection and a pronounced immune-inflammatory response in the abdominal cavity. **Conclusion.** The proposed approach promotes regeneration of continuous small bowel segments measuring 30 mm or more and enables restoration of all structural components of the bowel wall. This method shows potential for the treatment of conditions such as short bowel syndrome, inflammatory-destructive bowel diseases, and for the closure of circular defects following bowel resection.

Keywords: short bowel syndrome, small intestine, allogeneic biomaterials, xenogeneic grafts, regeneration.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром короткой кишки (СКК) – это тяжелое заболевание, характеризующееся недостаточным функционированием кишечного эпителия, вызванного врожденным отсутствием кишечника или из-за приобретенной патологии вследствие хирургической резекции 50–75% абсолютной длины кишечника по поводу болезни Крона, инфаркта брыжеечной артерии, венозного тромбоза, неполного заворота кишок, аганглиоза кишечника, травмы или опухоли [1]. Пациентам с СКК часто требуются сочетание поддерживающего парентерального питания (ПП), консервативного и хирургического лечения, заключающегося в различных видах реконструктивных вмешательств на кишечнике [1]. Исследования показывают, что ПП увеличивает продолжительность жизни пациентов с СКК и в некоторых случаях является единственным эффективным методом лечения [2]. В случаях приобретенного синдрома короткой кишки раннее применение ПП достоверно улучшает прогноз, а в случае тотального ПП однозначно улучшает отдаленные исходы [3]. Однако долгосрочная зависимость от полного ПП существенно снижает качество жизни пациентов и может сопровождаться жизнеугрожающими осложнениями (катетер-ассоциированный сепсис, диссеминированный тромбоз, печеночная недостаточность), а также приводит к изменению микробиома кишечника и викарной атрофии энтероцитов, что может вторично усугубить кишечную недостаточность [4–6]. В тяжелых случаях, когда зависимость от ПП приводит к необратимой кишечной недостаточности, для достижения энтеральной автономии может быть рассмотрена трансплантация донорского тонкого кишечника (в том числе органокомплекса), однако ряд исследований показал высокую летальность и неоднозначные результаты такого метода наряду с известными сложностями подбора донора и необходимостью иммуносупрессорной терапии [7, 8]. Операция трансплантации по поводу воспалительных заболеваний кишечника имеет высокий риск послеоперационных осложнений и смертности [9]. Кроме того, наличие в анамнезе кахексии, полиорганной недостаточности, нередко сопутствующих СКК, может усугубить прогноз пациентам после трансплантации, что подчеркивает необходимость иного подхода [10]. Альтернативные хирургические вмешательства, такие как серийная поперечная энтеропластика и продольное удлинение и адаптация кишечника, показали многообещающие результаты у пациентов до 1 года, обеспечивая достаточную энтеральную абсорбцию и необходимую длину тонкого кишечника, но операции имеют ряд соответствующих ограничений. Не всегда можно достичь полноценной кишечной автономии, оперативные вмешательства связаны с большим риском послеоперационных осложнений [11]. При этом традиционная терапия, в т. ч. парентеральное питание, может быть недостаточной для обеспечения полноценного метаболического статуса у пациентов с СКК [8]. Однако ПП все еще занимает важную роль в коррекции метаболических сдвигов и может быть пожизненно необходимым у пациентов с тяжелой декомпенсированной кишечной недостаточностью. Поэтому существует необходимость разработки новых подходов к лечению, включая методы регенеративной медицины – тканевой инженерии. К скаффолдам предъявляется ряд требований, направленных на восстановление анатомических и функциональных характеристик кишечника путем создания трехмерных структур [12]. Они должны обладать потенциалом к индукции регенерации, контролируемой биодеградации, обеспечивать адаптивное микроокружение для селективного роста тканей на месте имплантации [13, 14]. С этой целью применяют различные виды биологических каркасов *in vivo*: полигликолевую кислоту, матригель, ксеногенный коллагеновый матрикс [15–17], хитозан/коллагеновую каркасную трехмерную матрицу [18]. Однако полученный трансплантат не отвечал долгосрочным функциональным и механическим требованиям, после имплантации наблюдалась регенерация

кишечника с тонким мышечным слоем, которая исчезала к 16-й неделе [19]. Среди биосовместимых материалов выделяют биоматериалы, созданные на основе аллогенного экстрацеллюлярного матрикса. Последний может представлять собой как бесклеточный дермальный матрикс, фиброин, подслизистую основу тонкой кишки, коллагеновую губку, так и децеллюляризированную кадаверную тонкую кишку [20–22]. Единичные исследования показывают, что аллогенные децеллюляризированные биоматериалы на основе коллагенового матрикса могут эффективно замещаться собственными тканями, способствуя регенерации тканей без формирования рубца или капсулы, а также ингибируя воспалительные фиброзные изменения в тканях [23–26]. Несмотря на широкое применение аллотрансплантатов в различных областях хирургии, данный биоматериал для восстановления дефекта кишки ранее не применялся. Целью настоящего исследования явилось обоснование возможности применения аллогенного биоматериала для восстановления циркулярного дефекта подвздошной кишки крысы размером 30 мм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В эксперименте были использованы половозрелые крысы-самцы линии Wistar (n = 120), возраст 1 год, масса 300 г. Все проводимые эксперименты получили одобрение комитета по биологической безопасности и биоэтике ФГБОУ ВО «БГМУ» Минздрава России, протокол № 45 (Уфа, Россия). Настоящее исследование проводилось с соблюдением положений Европейской конвенции по обращению с лабораторными животными и директивы 2010/63/EU. Животных содержали в лабораторных клетках с соблюдением температурного, водно-пищевого и циркадного режимов. Животные были разделены на 2 группы. 1-й группе (n = 60) была проведена операция по имплантации аллогенного децеллюляризированного биоматериала, смоделированного в виде адаптированной трубки длиной 30 мм и диаметром 5 мм. 2-й группе (n = 60) трансплантировали аналогичный по размерам, геометрической конфигурации и прочностным характеристикам ксенотрансплантат, полученный из кадаверной ткани фиброзной капсулы почки человека. За 1–2 суток проводилась предоперационная подготовка. Животные содержались на диете, включающей 5% глюкозу. За 30 минут перед операцией проводилась инъекция цефтриаксона 1,0–0,2 мл и атропина сульфата 0,1% – 0,05 мл подкожно. Далее животных наркотизировали раствором диэтилового эфира с помощью маски Шиммельбуша. После обработки кожи йодонатом натрия с 96% этанолом послойным рассечением тканей выполняли срединный лапаротомический доступ длиной 30 мм и визуализировали содержимое брюшной полости. После верификации анатомического перехода тонкого в толстый кишечник в рану выводили петлю – дистальный отдел подвздошной кишки вместе с брыжейкой с соответствующими аркадами. Дальнейшие манипуляции были проведены с помощью микрохирургической техники под постоянным визуальным контролем хирургического операционного микроскопа Carl Zeiss Opmi MD Opton S-3 (Германия). Далее удаляли часть кишки в виде циркулярного дефекта длиной 30 мм, между проксимальным и дистальным отделами кишки имплантировали биоматериалы конец в конец в виде циркулярно уложенного лоскута через все слои стенки кишки с использованием нитей Vicryl 10-0 непрерывным обвивным швом. Затем место операции укрывали петлей большого сальника, которую фиксировали серозно-мышечными швами для закрытия дефекта брыжейки. Рану передней брюшной стенки ушили послойно Vicryl 5-0. В послеоперационном периоде животных содержали в течение 48 часов на жидкой диете (глюкоза 5%), а затем возвращали на полноценный корм. После операции животных выводили из эксперимента инсуффляцией парами хлороформа на 7, 14, 21, 30, 60, 90, 150, 240-е сутки, при этом иссекали ткани места операции с окружающими тканями для проведения морфологического исследования.

Изготовление биоматериалов

Аллотрансплантаты для хирургии с торговой маркой ALLOPLANT® производятся в лаборатории консервации тканей Всероссийского центра глазной и пластической хирургии ФГБОУ ВО «БГМУ» МЗ РФ (г. Уфа). Аллогенные трансплантаты были изготовлены из фрагментов тонкой кишки крысы, ксеногенные – из фиброзной капсулы почки человека. Как аллогенные, так и ксеногенные образцы биоматериалов были обработаны методом детергентной децеллюляризации, который позволяет элиминировать клеточные компоненты тканей и сохранять их исходную фиброархитектонику и физико-пластические свойства, и изготавливались согласно ТУ 9398-001-04537642-2011 [26] (рис. 1). Образцы исследуемых биоматериалов подвергали механической очистке от остатков прилегающих тканей и посторонних загрязнений, затем промывали в проточной воде. Размеры ткани для пересадки готовились в соответствии с дефектами кишки. Для проведения децеллюляризации образцы подвергали стандартной методике, помещали в стеклянную емкость с 3% раствором перекиси водорода и подвергали перемешиванию на орбитальном шейкере PSU-20i (Латвия) со скоростью 200 об./мин при температуре 25 °С в течение 15 минут для удаления кровяных элементов и тканевой жидкости. Далее тщательно промывали образцы стерильной дистиллированной водой 30 минут, затем

30 минут изотоническим раствором натрия хлорида. На следующем этапе исследуемые образцы для обезжиривания помещали в 95% раствор этилового спирта и диэтилового эфира в соотношении 3 : 1 на 3 часа, после чего тщательно промывали стерильной дистиллированной водой в течение 30 минут. После этого многократно промывали в гипертоническом растворе натрия хлорида 30 минут. После чего ткани помещали в стеклянные флаконы с раствором 70% этилового спирта, герметично укупоривали и стерилизовали ионизирующим излучением потоков быстрых электронов на РТК ЛУ-7-2 (г. Саров, Россия) в дозе 15 кГр (1,5 Мрад).

Гистологические и иммуногистохимические исследования

Аутопсийный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин для гистологической заливки Гистомикс (ООО «ЭргоПродакшн», Россия). Гистологические срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Leica, Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону (ООО «ЭргоПродакшн», Россия). Для иммуногистохимических исследований парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Leica, Германия). В качестве первичного антитела применяли pecam-M1 (H-3) в разведении 1 : 300 (Sc-376764) (Santa Cruz Biotechnology, США), CD86 (E-AB-40090) разведении 1 : 150 (Elabscience, КНР) и NF-h (E5) в разведении 1 : 300 (Sc22909) (Santa Cruz Biotechnology, США). Для окрашивания использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия). Реакции были выполнены после депарафинизации и дегидратации, демаскировки антигенов фосфатно-солевым буфером (pH 8,0) в течение 30 минут, блокировки эндогенной пероксидазы 3% раствором перекиси водорода с экспозицией 30 минут при 37 °C. Для отмывки использовали PBS буфер (pH 7,4). Срезы выдерживали в протеиновом блоке при 37 °C 30 мин, после чего наносили антитела, инкубировали 20 мин. Ядра докрашивали гематоксилином. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием микроскопа Leica DMD 108 (Leica, Германия) со специализированным программным обеспечением. Фоторегистрацию макропрепаратов проводили Nikon Eclipse 80i (камера Nikon DS-Fi1) (Nikon, Япония).

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проведена с использованием программного обеспечения Jamovi версии 2.6.44 и Microsoft Excel 2019 года.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В контрольной группе после применения ксеногенного трансплантата 43 животных из 49 (87,6%) погибли после операции в ближайшие 7 суток, остальные 4 животные прожили до 14 суток. Таким образом, послеоперационная летальность составила 100%. Досуточная летальность к абсолютному числу крыс составляла 53,3%. Макроскопически имплантированный биоматериал после вмешательства сохранял целостность, имел умеренную геморрагическую имбибицию поверхности и выраженный сосудистый рисунок (рис. 2).

Гистологическая картина этих образцов соответствовала картине выраженной воспалительной ре-

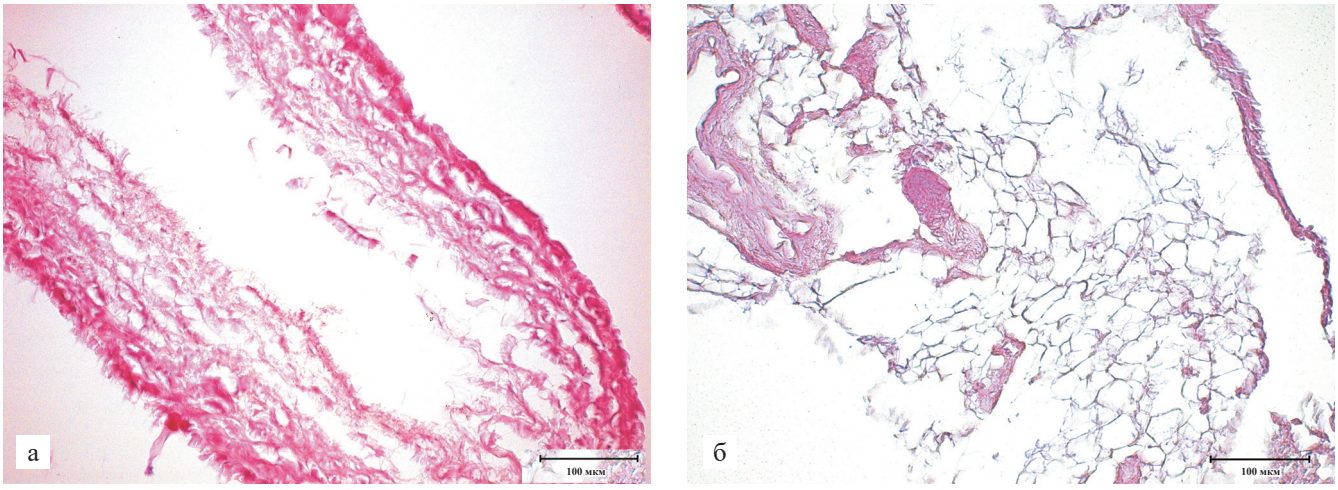


Рис. 1. Биоматериалы: а – ксенотрансплантат из фиброзной капсулы почки человека; б – аллотрансплантат из тонкого кишечника крысы. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 1. Biomaterials: a – xenograft derived from the fibrous capsule of a human kidney; б – allograft derived from the small bowel of a rat. H&E stain

акции – некроза. Выявлялись признаки некробиотических процессов: лизис частиц ксенотрансплантата, дилятация, полнокровие и стаз сосудов кровеносного русла, выраженная инфильтрация воспалительными клетками: нейтрофилами, макрофагами, лаброцитами, лимфоцитами, гнойное расплавление трансплантированных и окружающих зону операции тканей (рис. 3).

В опытной группе животных после аллотрансплантации досуточная летальность составила 2% (n = 1). При морфологическом исследовании через 7 дней после проведенной операции аллогенный биоматериал подвергался постепенной биодеградации и резорбции макрофагами. Параллельно он замещался грануляционной тканью, представленной рыхлой волокнистой соединительной тканью с макрофагально-фибробластической инфильтрвцией и наличием лейкоцитов (рис. 4).

На месте трансплантата формировалась грануляционная ткань. Со стороны просвета кишки опреде-

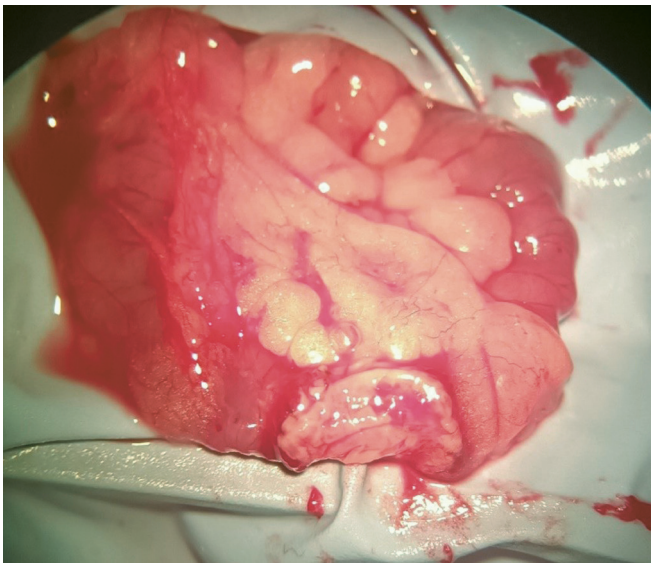


Рис. 2. Вид биоматериала после имплантации

Fig. 2. Gross appearance of the biomaterial following implantation



Рис. 3. Некроз кишки после проведения ксенотрансплантации. Микрофото

Fig. 3. Intestinal necrosis following xenotransplantation. Micrograph

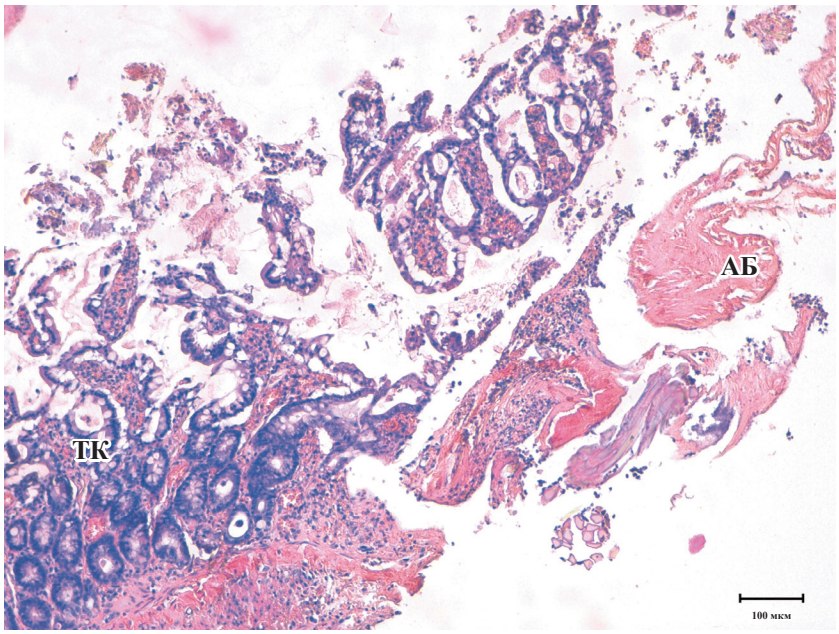


Рис. 4. 7 дней после трансплантации аллогенного биоматериала (АБ) в дефект тонкой кишки (ТК). Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 4. Seven days after transplantation of allogeneic biomaterial (АБ) into a small intestinal (ТК) defect. H&E stain

лялись признаки разрастания однослойного эпителия со стороны окружающих тканей на новообразованные коллагеновые волокна грануляционной ткани (рис. 5).

Спустя 14 суток аллогенного биоматериала не было обнаружено. Он замещался грануляционной тканью, состоящей из разнонаправленных коллагеновых волокон, инфильтрированных макрофагально-фибробластическими клетками (рис. 6, а). В перифокальной зоне определялись признаки дифференциации эпителиальных клеток, появлялись колоноциты, каемчатые энтероциты, единичные бокаловидные клетки, ворсинки удлинялись, формировалась собственная пластинка слизистой оболочки кишки. Также выявлялась сеть разнонаправленных гемокапилляров. Интенсивно окраши-

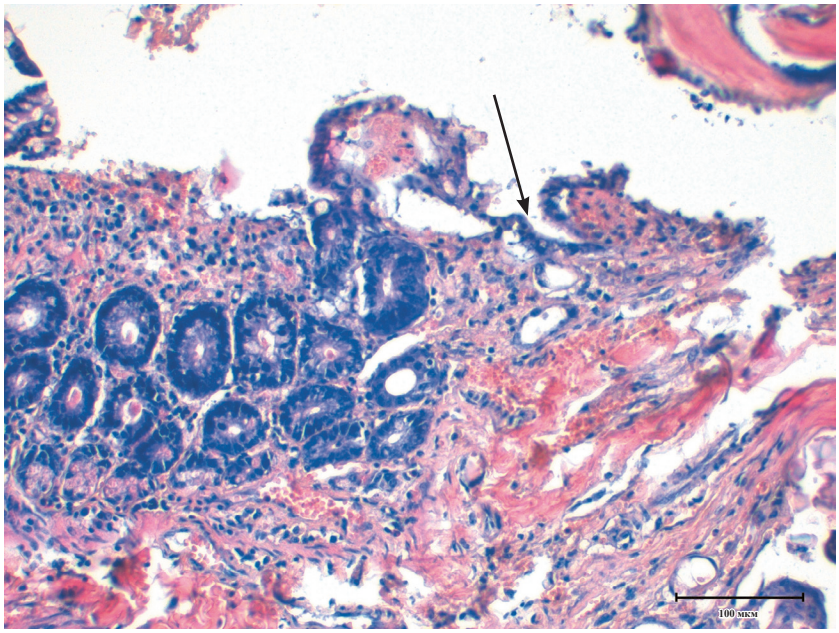


Рис. 5. 7 дней после трансплантации аллогенного биоматериала в дефект тонкой кишки. Монослой эпителиоцитов на границе с грануляционной тканью (↑). Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 5. Seven days after transplantation of allogeneic biomaterial into a small intestinal defect. A monolayer of epithelial cells bordering the granulation tissue (↑). H&E stain

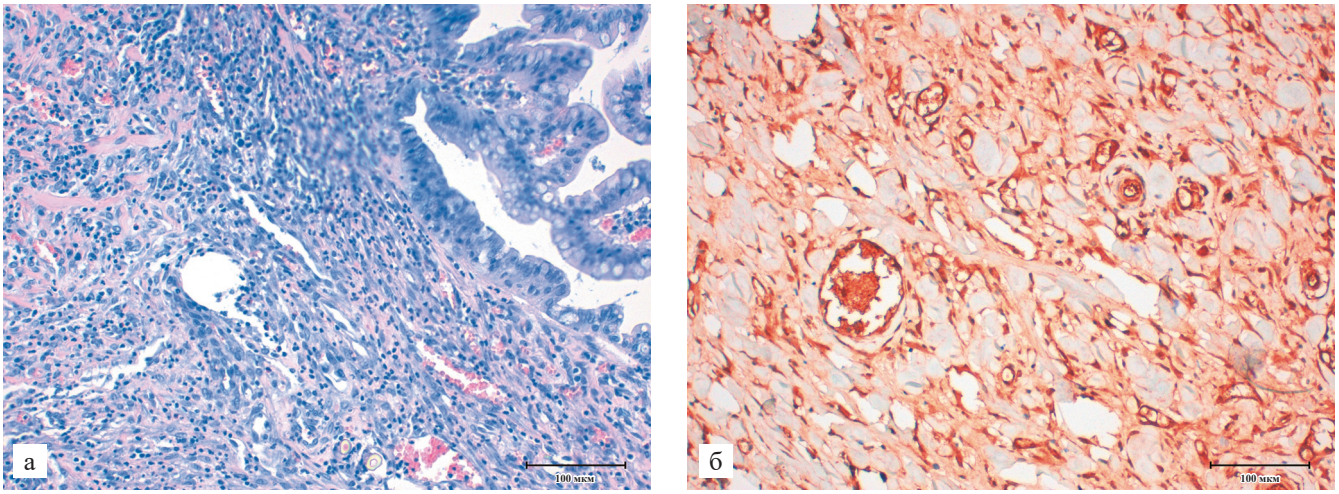


Рис. 6. 14 суток после трансплантации аллогенного биоматериала в дефект тонкой кишки: а – грануляционная ткань, окраска гематоксилином и эозином; б – выявление PECAM-клеток (коричневое окрашивание), непрямой иммунопероксидазный метод выявления антител к PECAM с докраской гематоксилином

Fig. 6. Fourteen days after transplantation of allogeneic biomaterial into a small intestinal defect: a – granulation tissue, H&E stain; б – detection of PECAM-positive cells (brown staining), indirect immunoperoxidase staining for PECAM with hematoxylin counterstaining

вались PECAM^{+} клетки (маркер эндотелиоцитов) (рис. 6, б).

Спустя 1 месяц аллогенный биоматериал был полностью на всем протяжении замещен грануляционной тканью, в которой проявлялись признаки зрелости. Пучки коллагеновых волокон приобретали одновекторное направление, параллельную ориентацию вдоль длинной оси кишки. Наблюдались признаки пролиферации и миграции гладкомышечных клеток со стороны резецированной кишки из его мышечного слоя (как внутреннего циркулярного, так и наружного продольного) в межволоконные промежутки новообразованной волокнистой соединительной ткани (рис. 7, а). Миграции лейомиоцитов

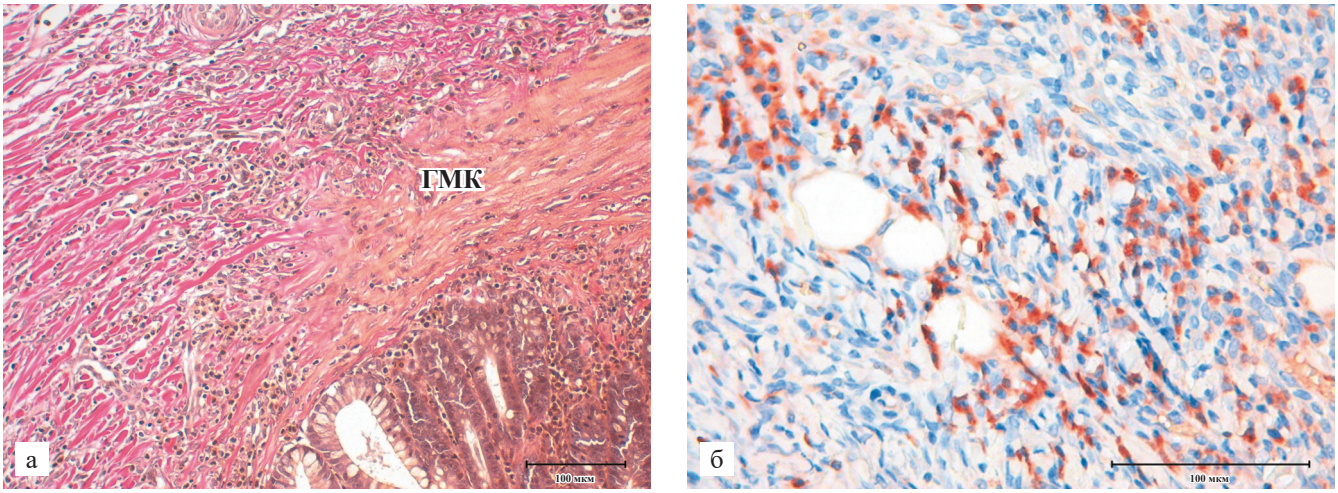


Рис. 7. Новообразованная грануляционная ткань через 30 суток после трансплантации аллогенного биоматериала: а – коллагеновые волокна имеют упорядоченную архитектонику, гладкомышечные клетки (ГМК) вдоль параллельно ориентированных новообразованных коллагеновых волокон, окраска по Ван-Гизону; б – выявление CD86-клеток, непрямой иммунопероксидазный метод выявления антител к CD86 с докраской гематоксилином

Fig. 7. Newly formed granulation tissue 30 days after transplantation of allogeneic biomaterial: a – organized collagen fiber architecture with smooth muscle cells (ГМК) aligned parallel to the newly formed collagen fibers, Van Gieson stain; б – detection of CD86-positive cells, indirect immunoperoxidase staining for CD86 with hematoxylin counterstain

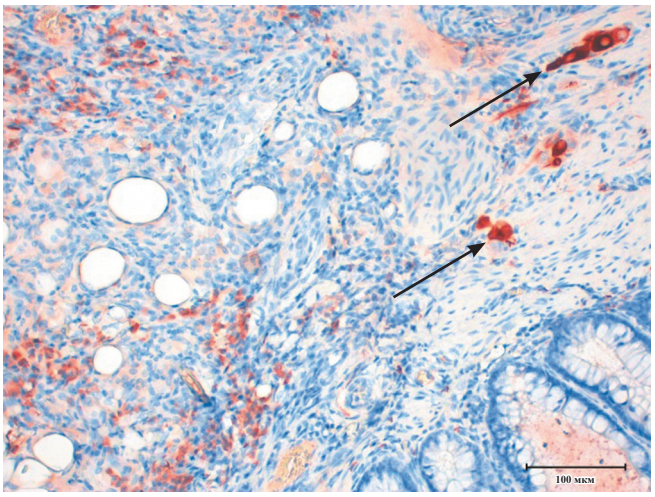


Рис. 8. Нервные клетки ганглий в стенке новообразованной тонкой кишки через 30 суток после трансплантации аллогенного биоматериала. Непрямой иммунопероксидазный метод выявления антител к NF-h с докраской гематоксилином

Fig. 8. Ganglion nerve cells in the wall of the newly formed small intestine 30 days after transplantation of allogeneic biomaterial. Indirect immunoperoxidase staining for NF-H with hematoxylin counterstain

предшествовала инфильтрация фибробластических и макрофагальных клеток, которые определялись в преобладающем количестве. Наблюдались макрофаги CD86^{+} (рис. 7, б).

В новообразованном межмышечном пространстве между наружным и внутренним циркулярными слоями определялись скопления нервных клеток ганглий мышечно-кишечного ауэрбахова нервного сплетения, также нейроэндокринные клетки были диссеминированы в подслизистом слое (рис. 8).

Через 2–3 месяца наблюдались признаки восстановления всех слоев стенки тонкой кишки. Происходило замещение дефекта с формированием мышечного слоя, состоящего из внутренней пластинки – циркулярно расположенных гладких мышечных клеток – и из наружней – продольно ориентированных лейомиоцитов. Наружный слой новообразованной кишки был представлен слоем рыхлой волокнистой соединительной ткани – адвентицией. В слизистой оболочке отмечалась вариабельность высоты ворсинок от 57 до 69 мкм. Основу клеток ворсинок составляли призматические всасывающие клетки, однако среди них встречались многочислен-

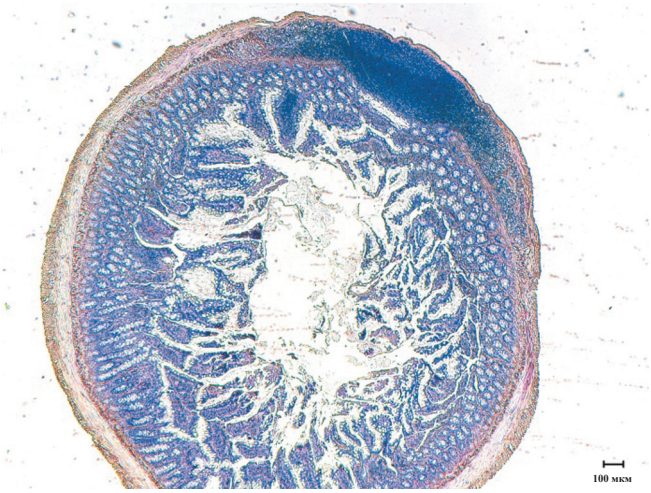


Рис. 9. Состояние тонкой кишки крысы после трансплантации аллогенного биоматериала через 3 месяца. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 9. Rat small bowel three months after transplantation of allogeneic biomaterial. H&E stain

ные бокаловидные клетки и клетки Панета. Собственная пластинка слизистой оболочки кишки состояла из рыхлой волокнистой соединительной ткани и содержала кровеносные сосуды и лимфатические капилляры. В слизистой оболочке выявлялись скопления лимфоидной ткани – пейеровы бляшки, что соответствует нормальной структуре стенки тонкой кишки. Спаечный процесс не обнаружен (рис. 9).

Следовательно, в начальные сроки эксперимента аллогенный биоматериал резорбировался макрофагами. На его месте формировалась грануляционная ткань, которая со временем постепенно замещалась органоспецифичными тканями со стороны интактной зоны тонкого кишечника со всеми ее структурными элементами. На основе новообразованной волокнистой соединительной ткани дефект тонкой кишки замещался мышечно-соединительно-тканным регенератом. Мышечный слой тонкой кишки состоял из продольно и поперечно ориентированных гладких мышечных клеток. Слизистая оболочка с характерными многочисленными удлиненными ворсинками и подслизистая оболочки присутствовали, были обращены в просвет кишки. Снаружи мышечного слоя определялась фиброзная тонкая пластинка – адвентиция.

ОБСУЖДЕНИЕ

Протестирована возможность применения биомиметиков различного происхождения для удлинения кишки 30 мм. В регенеративной медицине для этой цели в равной степени используются как ксено-, так и аллогенные биоматериалы [27]. Исследуемые биоматериалы были обработаны по одинаковой методике, но результаты морфологического исследования оказались противоположны. Так, при ксенотрансплантации наблюдалась летальность животных в ранние сроки в связи с отторжением биоматериала, развитием острого воспалительного иммунного ответа. Несмотря на отсутствие клеточных элементов, коллагеновые волокна имеют различную антигенную детерминированность, обусловленную инфильтрирующими макрофагальными клетками, которые и определяют исход заживления [28]. Результаты данного исследования показывают, что восстановление дефекта в группе животных с применением аллогенного трансплантата произошло. Смертность экспериментальных животных крайне низкая – 2%, или n = 1 в абсолютном значении, в то время как в контрольной группе 87,6%, или n = 43 в абсолютном значении. Можно полагать, что аллотрансплантаты не вызывают иммунного воспаления, биосовместимы. Выявлено, что они подвергаются постепенному лизису, биодеградации за счет макрофагальных клеток, которые превалировали в данной клеточной популяции. Нейтрофилы, лимфоциты обнаружены не были. Макрофаги находились в клеточных кооперациях с фибробластами, которые мигрировали на смену им для синтеза коллагеновых волокон грануляционной ткани. Различные подтипы макрофагов имеют различные функции в управлении восстановления тканей. Выявлено, что при резорбции аллогенного биоматериала принимают участие макрофаги с фенотипом CD86, которые являются классически активированными. М1-макрофаги экспрессируют повышенные уровни iNOS, CD86 и CD169 и т. д. [29–31]. Также многочисленные исследования указывают на ингибирование фиброза тканей за счет индуцированных макрофагов аллогенными биоматериалами [32, 33], которые функционируют в противовес профиброгенным М2 клеткам и являются их антагонистами, что особенно важно в начальный период ремоделирования [34]. В ранней стадии эксперимента макрофаги с фенотипом М1 мигрируют в область имплантации, вызывая фагоцитоз фрагментов биоматериала, что является критически важным для индукции образования грануляционной ткани [35]. Активная резорбция биоматериала, происходящая в ткани кишечника на 7–14-е сутки, способствует миграции и восстановлению слизистой оболочки и подслизистой ткани, что было представлено в 100% (n = 5/5) образцов ткани выведенных экспериментальных животных и соответствует данным других авторов [36]. Грануляционная ткань, формирующаяся на месте резорбированного биоматериала, присутствует в организме животного с 14-го по 30-й день и характеризуется наличием разнонаправленных коллагеновых волокон. Она является подложкой для миграции эпителиальных клеток слизистой оболочки тонкого кишечника со стороны перифокальной зоны. Полностью сформированные крипты и ворсинки, окруженные

плоским эпителием, продемонстрировали эпителиальную дифференцировку (колоноциты, каемчатые энтероциты, бокаловидные клетки, клетки Панета, нейроэндокриноциты). Со временем архитектоника коллагеновых волокон становилась упорядоченной, вектор волокон был ориентирован вдоль длинной оси кишечника, вероятно, это связано с контракцией органа. В расширенные межволоконные пространства прорастали лейомиоциты мышечного слоя. Во всех образцах, в которых обнаруживалась регенерация эпителия, также отмечалась более или менее развитая гладкомышечная мускулатура, состоящая из двух слоев – продольного и циркулярного. Наблюдались и другие структурные элементы кишки – кровеносные сосуды и нервные волокна. Обнаружена активная экспрессия фактора эндотелиальных клеток PECAM, которые участвовали в формировании сосудистых почек. Это указывает на активный процесс ангиогенеза, обеспечивающего необходимую перфузию для поддержания метаболических процессов в области анастомоза, и способствует доставке клеток, необходимых для дальнейшего этапа роста ткани [37]. Иннервация является ключом к успешной и состоятельной регенерации с конечной целью восстановления функции органа [38, 39]. Нервные волокна и нервные узлы энтеральной нервной системы располагались между циркулярным и продольным слоями мышц, а также в подслизистой основе. Нейроэндокринные клетки были распределены в эпителии слизистой оболочки и подслизистом слое. Известно, что энтеральная нервная система имеет потенциал к внутриклеточной регенерации и происходит при повреждении от предшествующих мышечно-нервных сплетений – ганглий Мейснеровского или ауэрбахова сплетений – и устанавливает прямые синаптические связи [40, 41]. К 60-му дню после трансплантации аллогенного матрикса произошло восстановление всех слоев стенки тонкой кишки, включая мышечный слой, слизистую оболочку, подслизистую пластинку и адвентицию. Возможность появления на данных сроках лимфоидного аппарата подтверждается множеством исследований, подчеркивающих вовлеченность иммунорегенераторных процессов [42, 43].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При помощи микрохирургических кишечных швов была достигнута механическая герметичность между индивидуально адаптированными трансплантатами и стенками резидуальной тонкой кишки соответственно их толщине и соразмерности слоев. Это является предиктором успешной регенерации. После пересадки ксеногенного биоматериала летальность экспериментальных животных достигала 100% в ранние сроки после операции в связи с выраженной иммунной реакцией «трансплантат против хозяина» и отторжением ксеногенного биоматериала. После применения АБ через 2–3 месяца после операции наблюдалось восстановление трехслойной микроанатомии и архитектоники всех слоев стенки тонкой кишки, что подтверждается непосредственной визуализацией кишечной стенки в различных плоскостях. Формирование в течение 1 месяца сосудистых структур демонстрирует ангиогенный потенциал аллогенного биоматериала и косвенно указывает на состоятельность перфузии участка кишки. Образование нервных ганглий служит доказательством перистальтической деятельности новообразованной кишки и формирования нервных кишечных сплетений. Таким образом, использование предложенного метода в эксперименте действительно способствует регенерации протяженного участка тонкой кишки от 30 мм, демонстрирует эффективность в восстановлении микроархитектоники кишечника со всеми структурными элементами кишечной стенки и может быть применимо для лечения заболеваний, ассоциированных с СКК.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Seetharam P, Rodrigues G.* Short bowel syndrome: a review of management options. *Saudi J Gastroenterol.* 2011; 17 (4): 229–235. doi: 10.4103/1319-3767.82573. PMID: 21727727; PMCID: PMC3133978.
2. *Lloyd DA, Vega R, Bassett P, Forbes A, Gabe SM.* Survival and dependence on home parenteral nutrition: experience over a 25-year period in a UK referral centre. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 24 (8): 1231–1240. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.03106.x. PMID: 17014582.
3. *Sabharwal G, Strouse PJ, Islam S, Zoubi N.* Congenital short-gut syndrome. *Pediatr Radiol.* 2004; 34 (5): 424–427. doi: 10.1007/s00247-003-1087-2. Epub 2003 Dec 16. PMID: 14676985.
4. *Jia Q, Li H, Zhou H, Zhang X, Zhang A, Xie Y et al.* Role and effective therapeutic target of gut microbiota in heart failure. *Cardiovasc Ther.* 2019; 2019: 5164298. doi: 10.1155/2019/5164298.
5. *DiMartini A, Rovera GM, Graham TO, Furukawa H, Todo S, Funovits M et al.* Quality of life after small intestinal transplantation and among home parenteral nutrition patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1998; 22 (6): 357–362. doi: 10.1177/0148607198022006357. PMID: 9829608.
6. *Atema JJ, Mirck B, Van Arum I, Ten Dam SM, Serlie MJ, Boermeester MA.* Outcome of acute intestinal failure. *Br J Surg.* 2016; 103 (6): 701–708. doi: 10.1002/bjs.10094. PMID: 26999497.
7. *Cowles RA, Ventura KA, Martinez M, Lobritto SJ, Harren PA, Brodlie S et al.* Reversal of intestinal failure–associated liver disease in infants and children on parenteral nutrition: experience with 93 patients at a referral center for intestinal rehabilitation. *J Pediatr Surg.* 2010;

45 (1): 84–88. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2009.10.014. PMID: 20105585.

8. *Spagnuolo MI, Cicalese MP, Bruzzese E, Caiazzo MA, Di Caro S, Squeglia V, Guarino A.* Eleven years of management of children with intestinal failure and not candidates for intestinal transplantation. *Transplant Research and Risk Management.* 2010; 2: 71–75. doi: 10.2147/TRRM.S11930.
9. *Kaye AJ, Patel SJ, Meyers SR, Ahlawat S.* Outcomes of inflammatory bowel disease in hospitalized patients with generalized anxiety disorder. *Cureus.* 2022; 14 (8): e27656. doi: 10.7759/cureus.27656. PMID: 36072180; PMCID: PMC9439936.
10. *Goulet O, Abi Nader E, Pigneur B, Lambe C.* Short bowel syndrome as the leading cause of intestinal failure in early life: some insights into the management. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2019; 22 (4): 303–329. doi: 10.5223/pghn.2019.22.4.303. PMID: 31338307; PMCID: PMC6629594.
11. *Камалова АА, Подшивалина АА, Сагеева ГИ, Дружкова ЕЕ.* Региональный опыт лечения детей с синдромом короткой кишки. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2022; 67 (5): 231–236. *Kamalova AA, Podshivalina AA, Sageeva GI, Druzhkova EE*. Regional experience in the treatment of children with short bowel syndrome. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. 2022; 67 (5): 231–236. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.21508/1027-4065-2022-67-5-231-236.
12. *Ladd MR, Costello CM, Gosztyla C, Werts AD, Johnson B, Fulton WB et al.* Development of intestinal scaffolds that mimic native mammalian intestinal tissue. *Tissue Eng Part A.* 2019; 25 (17–18): 1225–1241. doi: 10.1089/ten.TEA.2018.0239. PMID: 30652526; PMCID: PMC6760185.
13. *Wang Y, Wang Z, Dong Y.* Collagen-based biomaterials for tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng.* 2023; 9 (3): 1132–1150. doi: 10.1021/acsbiomaterials.2c00730. PMID: 36800415.
14. *Binlateh T, Thammanichanon P, Rittipakorn P, Thinsathid N, Jitprasertwong P.* Collagen-based biomaterials in periodontal regeneration: current applications and future perspectives of plant-based collagen. *Biomimetics (Basel).* 2022; 7 (2): 34. doi: 10.3390/biomimetics7020034. PMID: 35466251; PMCID: PMC9036199.
15. *Choi RS, Vacanti JP.* Preliminary studies of tissue-engineered intestine using isolated epithelial organoid units on tubular synthetic biodegradable scaffolds. *Transplant Proc.* 1997; 29: 848–851. doi: 10.1016/s0041-1345(96)00164-9. PMID: 9123551.
16. *Kim SS, Kaihara S, Benvenuto MS, Choi RS, Kim BS, Mooney DJ et al.* Regenerative signals for intestinal epithelial organoid units transplanted on biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering of small intestine 1, 2. *Transplantation.* 1999; 67 (2): 227–233. doi: 10.1097/00007890-199901270-00007. PMID: 10075585.
17. *Kaihara S, Kim SS, Kim BS, Mooney D, Tanaka K, Vacanti JP.* Long-term follow-up of tissue-engineered intestine after anastomosis to native small bowel. *Transplantation.* 2000; 69 (9): 1927–1932. doi: 10.1097/00007890-200005150-00031. PMID: 10830233.
18. *Zakhem E, Raghavan S, Bitar KN.* Neo-innervation of a bioengineered intestinal smooth muscle construct around chitosan scaffold. *Biomaterials.* 2014; 35 (6): 1882–1889. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.11.049. PMID: 24315576.
19. *Hori Y, Nakamura T, Kimura D, Kaino K, Kurokawa Y, Satomi S et al.* Experimental study on tissue engineering of the small intestine by mesenchymal stem cell seeding. *J Surg Res.* 2002; 102 (2): 156–160. doi: 10.1006/jsre.2001.6294. PMID: 11796013.
20. *Liu Z, Rütten S, Buhl EM, Zhang M, Liu J, Rojas-González DM et al.* Development of a Silk Fibroin-Small Intestinal Submucosa Small-Diameter Vascular Graft with Sequential VEGF and TGF-β1 Inhibitor Delivery for In Situ Tissue Engineering. *Macromolecular Bioscience.* 2023; 23 (9): 2300184. doi: 10.1002/mabi.202300184.
21. *Nakase Y, Hagiwara A, Nakamura T, Kin S, Nakashima S, Yoshikawa T et al.* Tissue engineering of small intestinal tissue using collagen sponge scaffolds seeded with smooth muscle cells. *Tissue Eng.* 2006; 12 (2): 403–412. doi: 10.1089/ten.2006.12.403. PMID: 16548698.
22. *Khasanov R, Svoboda D, Tapia-Laliena MÁ, Kohl M, Maas-Omlor S, Hagl CI et al.* Muscle hypertrophy and neuroplasticity in the small bowel in short bowel syndrome. *Histochem Cell Biol.* 2023; 160 (5): 391–405. doi: 10.1007/s00418-023-02214-4. PMID: 37395792; PMCID: PMC10624713.
23. *Pahari MP, Raman A, Bloomenthal A, Costa MA, Bradley SP, Banner B et al.* A novel approach for intestinal elongation using acellular dermal matrix: an experimental study in rats. *Transplant Proc.* 2006: 38 (6): 1849–1850. doi: 10.1016/j.transproceed.2006.05.052. PMID: 16908302.
24. *Nakase Y, Nakamura T, Kin S, Nakashima S, Yoshikawa T, Kuriu Y et al.* Endocrine cell and nerve regeneration in autologous in situ tissue-engineered small intestine. *J Surg Res.* 2007; 137 (1): 61–68. doi: 10.1016/j.jss.2006.06.019. PMID: 17084409.
25. *Мулдашев ЭР, Муслимов СА, Вялков ВА, Галимова ВУ, Нигматуллин РТ, Салихов АЮ и др.* Биоматериал «Аллоплант» для регенеративной хирургии. Патент RU 2189257 C1. 2002-09-20. *Muldashev ER, Muslimov SA, Vyalkov VA, Galimova VU, Nigmatullin RT, Salikhov AYu et al.* Biomaterial «Alloplant» dlya regenerativnoy khirurgii. Patent RU 2189257 C1. 2002-09-20. [In Russ, English abstract].
26. Регенеративная медицина. Под ред. Э.Р. Мулдашева. Уфа: ГУП «Башкортостан», 2014; 432. Regenerativnaya meditsina. Pod red. E.R. Muldasheva. Ufa: GUP «Bashkortostan», 2014; 432. [In Russ, English abstract].
27. *Chen Y, Guo C, Manousiouthakis E, Wang X, Cairns DM, Roh TT et al.* Bi-layered tubular microfiber scaffolds as functional templates for engineering human intestinal smooth muscle tissue. *Adv Funct Mater.* 2020; 30 (17): 2000543. doi: 10.1002/adfm.202000543. Epub 2020 Feb 27. PMID: 33692658; PMCID: PMC7938961.

28. *Лебедева АИ, Муслимов СА, Мусина ЛА*. Экспериментальное моделирование процесса хронического воспаления и фиброза. *Биомедицина*. 2013; 1 (4): 114–123. *Lebedeva AI, Muslimov SA, Musina LA*. Experimental modeling of the process of chronic inflammation and fibrosis. *Journal Biomed*. 2013; 1 (4): 114–123. [In Russ, English abstract].
29. *Murray PJ, Wynn TA.* Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11 (11): 723–737. doi: 10.1038/nri3073. PMID: 21997792; PMCID: PMC3422549.
30. *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; PMCID: PMC3569720.
31. *Liu Z, Zhu J, Li Z, Liu H, Fu C.* Biomaterial scaffolds regulate macrophage activity to accelerate bone regeneration. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023; 11: 1140393. doi: 10.3389/fbioe.2023.1140393. PMID: 36815893; PMCID: PMC9932600.
32. *Лебедева АИ, Гареев ЕМ, Афанасьев СА, Кондратьева ДС, Муслимов СА, Попов СВ.* Аллогенный биоматериал – ингибитор фиброза в ишемически поврежденном миокарде. *Медицинская иммунология.* 2023; 25 (2): 301–308. *Lebedeva AI, Gareev EM, Afanasiev SA, Kondratieva DS, Muslimov SA, Popov SV*. Allogeneic biomaterial: a fibrosis inhibitor in ischemic myocardial damage. *Medical Immunology (Russia)*. 2023; 25 (2): 301–308. [In Russ, English abstract]. https://doi.org/10.15789/10.15789/1563-0625-ABA-2359.
33. *Мусина ЛА, Шакиров РФ, Галимова ВУ, Шангина ОР, Лебедева АИ, Кадыров РЗ.* Биоматериал «Аллоплант» как ингибитор рубцевания поврежденной роговицы (иммуногистохимическое исследование). *Практическая медицина*. 2019; 17 (1): 112–116. *Musina LA, Shakirov RF, Galimova VU, Shangina OR, Lebedeva AI, Kadirov RZ*. «Alloplant» biomaterial as the inhibitor of scarring the damaged cornea (immunochistochemical study). *Practical medicine*. 2019; 17 (1): 112–116. [In Russ, English abstract].
34. *Abraham DJ, Shiwen X, Black CM, Sa S, Xu Y, Leask A.* Tumor necrosis factor α suppresses the induction of connective tissue growth factor by transforming growth factor-β in normal and scleroderma fibroblasts. *J Biol Chem.* 2000; 275 (20): 15220–15225. doi: 10.1074/jbc.275.20.15220. PMID: 10809757.
35. *Censi R, Van Putten S, Vermonden T, Di Martino P, Van Nostrum CF, Harmsen MC et al.* The tissue response to photopolymerized PEG-p (HPMAm-lactate)-based hydrogels. *J Biomed Mater Res A.* 2011; 97 (3): 219–229. doi: 10.1002/jbm.a.33048. PMID: 21442723.
36. *García-Arrarás JE, Valentín-Tirado G, Flores JE, Rosa RJ, Rivera-Cruz A, San Miguel-Ruiz JE et al.* Cell dedifferentiation and epithelial to mesenchymal transitions during intestinal regeneration in H. glaberrima. *BMC Dev Biol.* 2011; 11 (1): 61. doi: 10.1186/1471-213X-11-61. PMID: 22004330; PMCID: PMC3207902.
37. *Reing JE, Zhang L, Myers-Irvin J, Cordero KE, Freytes DO, Heber-Katz E et al.* Degradation products of extracellular matrix affect cell migration and proliferation. *Tissue Eng Part A.* 2009; 15 (3): 605–614. doi: 10.1089/ten.tea.2007.0425. PMID: 18652541.
38. *Khodosevich K, Monyer H.* Signaling involved in neurite outgrowth of postnatally born subventricular zone neurons *in vitro*. *BMC Neurosci.* 2010; 11 (1): 18. doi: 10.1186/1471-2202-11-18. PMID: 20146799; PMCID: PMC2831042.
39. *Rao M, Gershon MD.* The bowel and beyond: the enteric nervous system in neurological disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016; 13 (9): 517–528. PMCID: PMC5005185.
40. *Fehèr E.* Ultrastructural study of nerve terminals in the submucous plexus and mucous membrane after extirpation of the myenteric plexus. *Acta Anat (Basel).* 1976; 94 (1): 78–88. PMID: 961341.
41. *Da Silveira AB, Freitas MA, De Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Furness JB et al.* Neuronal plasticity of the enteric nervous system is correlated with chagasic megacolon development. *Parasitology.* 2008; 135 (11): 1337–1342. doi: 10.1017/S0031182008004770. PMID: 18664306.
42. *Musina LA, Shangina OR, Nigmatullin RT, Muslimov SA.* Experimental muscle reinnervation by allogeneic biomaterial illustrates restoration of interlevel relations in human body. *Saratov Medical Journal.* 2020; 16 (2): 623–627.
43. *Nich C, Takakubo Y, Pajarinen J, Ainola M, Salem A, Sillat T et al.* Macrophages – key cells in the response to wear debris from joint replacements. *J Biomed Mater Res A.* 2013; 101 (10): 3033–3045. doi: 10.1002/jbm.a.34599. Epub 2013 Apr 9. PMID: 23568608; PMCID: PMC3775910.

Статья поступила в редакцию 16.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 16.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-238-249

ЭВОЛЮЦИЯ МОДЕЛЕЙ В УРОЛОГИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ И ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ: ОТ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДО ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

С.В. Попов[1–3], Р.Г. Гусейнов[1, 3], К.И. Стосман[4], К.В. Сивак[1, 4], Т.Н. Саватеева-Любимова[4], Е.А. Малышев[1], А.Х. Бештоев[1], Т.А. Лелявина[1, 5]

[1] СПб ГБУЗ «Клиническая больница Святителя Луки», Санкт-Петербург, Российская Федерация
[2] ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
[3] ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», Санкт-Петербург, Российская Федерация
[4] ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева», Санкт-Петербург, Российская Федерация
[5] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Актуальность. Эксперименты на животных играют важную роль в современной хирургии, позволяют разработать новые операционные техники, материалы для трансплантатов и др. Помимо животных в современной хирургии и трансплантологии активно используются роботизированные системы и искусственный интеллект, способные минимизировать интраоперационные кровопотери, частоту раневых инфекций, осуществить подбор «донор–реципиент», прогнозировать выживаемость трансплантата и многое др. **Цель:** анализ эволюции хирургических моделей *in vivo* и оценка современных стратегий трансплантации и эксплантации. **Материалы и методы.** Поиск литературы в базе данных Scopus, PubMed и РИНЦ с использованием поискового запроса «хирургические модели на животных», «трансплантация почки», «ксенотрансплантация», «искусственный интеллект в трансплантологии и хирургии», «роботизированная хирургия». Проанализировано 430 публикаций в отечественных и зарубежных журналах за 2006–2025 гг. В результате отбора в обзор были включены 87 публикаций. Прослежена трансформация от анатомических исследований к сложным хирургическим системам. Ключевым этапом стало внедрение моделей для трансплантации почки на крупных животных (свиньях). Современный этап характеризуется интеграцией роботических систем и искусственного интеллекта, обеспечивающих минимальную инвазивность и точность. **Заключение.** Проведение испытаний на лабораторных животных необходимо, особенно при выполнении хирургических операций, моделирование которых математически невозможно.

Ключевые слова: хирургические модели in vivo, трансплантация почки, роботизированная хирургия, искусственный интеллект, машинная перфузия, ксенотрансплантация, эксплантация ex vivo.

Для корреспонденции: Лелявина Татьяна Александровна. Адрес: 198515, Санкт-Петербург, Стрельна, ул. Декабристов, д. 6. Тел. (981) 908-90-18. E-mail: tatianalelyavina@mail.ru

Corresponding author: Tatiana Lelyavina. Address: 6, Dekabristov str., Strelna, St. Petersburg, 198515, Russian Federation. Phone: (981) 908-90-18. E-mail: tatianalelyavina@mail.ru

EVOLUTION OF MODELS IN UROLOGICAL SURGERY AND TRANSPLANTOLOGY: FROM LABORATORY ANIMALS TO ARTIFICIAL INTELLIGENCE

S.V. Popov[1–3], R.G. Huseynov[1, 3], K.I. Stosman[4], K.V. Sivak[1, 4], T.N. Savateeva-Lyubimova[4], E.A. Malyshev[1], A.Kh. Beshtoev[1], T.A. Lelyavina[1, 5]

[1] St. Luke's Clinical Hospital, St. Petersburg, Russian Federation
[2] Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation
[3] St. Petersburg Medical and Social Institute, St. Petersburg, Russian Federation
[4] Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation
[5] Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

Background. Animal experiments play a vital role in modern surgery, enabling the development of new surgical techniques, transplant materials, and more. In addition, modern surgery and transplant medicine utilize robotic systems and artificial intelligence to minimize intraoperative blood loss and wound infections, facilitate donor–recipient matching, and predict graft survival. **Objective:** to analyze the evolution of *in vivo* surgical models and evaluate modern strategies for transplantation and explantation. **Materials and methods.** A literature search was conducted in the SCOPUS, PubMed, and the Russian Science Citation Index (RSCI) databases using the following search terms: «*хирургические модели на животных*» (meaning «animal surgical models» in English), «*трансплантация почки*» (kidney transplantation), «*ксенотрансплантация*» (xenotransplantation), «*искусственный интеллект в трансплантологии и хирургии*» (artificial intelligence in transplantology and surgery) and «*роботизированная хирургия*» (robot-assisted surgery). A total of 430 publications from Russian and international journals published between 2006 and 2025 were analyzed. Following the selection process, 87 publications were included in the review. The evolution from anatomical studies to complex surgical systems was traced, with a key milestone being the introduction of kidney transplantation models in large animals (pigs). The current stage is characterized by integration of robotic systems and artificial intelligence, ensuring minimal invasiveness and high precision. **Conclusion.** Testing on laboratory animals remains essential, particularly for surgical procedures that cannot be adequately modeled mathematically.

Keywords: in vivo surgical models, kidney transplantation, robot-assisted surgery, artificial intelligence, machine perfusion, xenotransplantation, ex vivo explantation.

ВВЕДЕНИЕ

Эволюция хирургических моделей трансплантации почки берет свое начало от первых операций с использованием трупных органов, которые стали выполнять в 1930-х годах. Позже, в 1954 году, в Бостоне была проведена успешная операция по пересадке почки от одного однояйцевого близнеца другому. Пациент прожил после этого несколько лет.

В настоящее время хирургические методы трансплантации органов претерпели значительные изменения, где физиологическая точность приоритетнее простоты [1]. Основное внимание уделяется исследованию механизмов ключевых процессов (иммунологические реакции, биохимические процессы, молекулярно-генетические механизмы, физиологические процессы, клеточные механизмы, технологические процессы, фармакокинетические механизмы) [2, 3], рассмотрению методологических подходов к проведению экспериментов и оценке практического применения полученных результатов в различных областях науки и техники. Современная урологическая хирургия, в особенности трансплантология, характеризуется стремительной интеграцией технологических инноваций, что кардинально трансформирует доклинические исследования и хирургическую практику [4, 5]. Эволюция хирургических моделей для трансплантации и эксплантации *in vivo* изменила доклинические исследования благодаря технологической интеграции, усовершенствованным биологическим стратегиям и междисциплинарным инновациям [6]. Ключевой вызов заключается в преодолении разрыва между экспериментальными данными и клиническим применением, что требует разработки высокоточных хирургических моделей [7, 8]. Настоящий обзор фокусируется на эволюции таких моделей в контексте урологии с акцентом на трансплантацию почки [9–11], биоинженерию и развитие минимально инвазивных технологий, активно привлекая опыт смежных хирургических дисциплин.

В настоящее время методы *ex vivo* являются дополнением к экспериментам на животных [12]. Они позволяют проводить высокоточные исследования на человеко-релевантном материале, снижая количество используемых лабораторных животных в соответствии с принципом *Replacement*, и служат

важным промежуточным звеном между исследованиями *in vivo* и клинической практикой. Поэтому в обзоре также рассматриваются ключевые стратегии эксплантации, которые либо напрямую используются в качестве альтернативы *in vivo*-моделированию, либо являются критически важным этапом подготовки и оценки в рамках комплексных доклинических исследований, включающих последующую *трансплантацию in vivo* [13], искусственный интеллект и интеграцию с платформами *ex vivo* [14]. Настоящий обзор систематизирует эти этапы, прослеживая, как изменение целей и возможностей доклинических исследований закономерно трансформировало требования к хирургическим моделям, делая их все более комплексными, минимизированными и человекоориентированными, вплоть до новейших подходов, таких как ксенотрансплантация и изучение психологических аспектов у реципиентов.

Таким образом, эволюционный подход к анализу хирургических моделей *in vivo* предполагает рассмотрение не изолированных технологий, а последовательной смены взглядов: от грубых анатомических исследований через становление физиологически релевантных и этичных моделей к эре высокоточных технологий, включая роботизацию, искусственный интеллект и интеграцию с платформами *ex vivo*.

Цель данного обзора – анализ эволюции хирургических моделей *in vivo* и оценка современных стратегий трансплантации и эксплантации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа опубликованных результатов научных исследований нами была использована методология (рис.), включающая разработку критериев соответствия с использованием стратегии PICOS; систематический поиск и отбор литературы в соответствии с принципами *PRISMA* (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* – предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализов); извлечение данных и оценка их качества [15]; синтез и анализ данных с применением *TRIZ* (*Theory of Inventive Problem Solving* – теория решения изобретательских задач) [16]; интерпретация результатов и формулировка выводов; включение проанализированных данных в обзор. В результате поиска в наукометрических базах данных Scopus, PubMed и РИНЦ из 430 первоначально идентифицированных публикаций после двухуровневого скрининга было отобрано 87 релевантных исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

История использования хирургических моделей в экспериментах *in vivo* берет начало в Древней Греции, где животных использовали преимущественно для анатомических исследований. Со временем они стали неотъемлемым инструментом доклинических испытаний в хирургии [17]. Знаковым этапом стало осознание необходимости воспроизведения не только анатомической, но и патофизиологической точности. В XX веке произошел постепенный переход от простых моделей к сложным, с фокусом на физиологическом подобии. Это особенно ярко проявилось в урологии, где трансплантация почки стала основным методом лечения терминальной стадии почечной недостаточности (ТСПН) [18]. Первые успешные трансплантации положили начало активному поиску оптимальных моделей для отработки хирургической техники и для изучения иммунного ответа организма на трансплантированный орган. Важным историческим поворотом стало внедрение принципа «3R» (*replacement, reduction, refinement*), который сформулировал этическую и методологическую концепцию работы с животными и потребовал тщательного обоснования выбора модели в зависимости от целевого показателя: исследования биосовместимости или оценки эффективности терапии [17].

К концу XX – началу XXI века с развитием микрохирургических технологий и появлением минимально инвазивной хирургии началась новая эра. Использование роботических систем при выполнении хирургических вмешательств произвело революцию в проведении сложных операций [19]. С момента первой успешной трансплантации почки на различных этапах имплантации почечного трансплантата было внедрено множество инноваций, включая усовершенствованные методы наложения сосудистых и мочевых анастомозов, позиционирования трансплантата [20]. Отправной точкой для современной роботизированной урологии считается первая полностью роботизированная трансплантация почки человека, выполненная в 2010 году [21]. Это событие ознаменовало переход к малоинвазивным подходам в трансплантологии. Дальнейшее развитие, включая создание европейского консорциума *ERUS-RAKT* (*European Robotic Urology Society – Robot-Assisted Kidney Transplantation*: европейский консорциум, созданный для разработки, изучения и продвижения метода робот-ассистированной трансплантации почки), наработки практического опыта более чем на 600 вмешательствах, подтвердило безопасность и эффективность метода, сделав его стандартом в ведущих центрах, занимающихся трансплантацией почек [21]. Параллельно с хирургическими технологиями развивалось и направление искусственного интеллекта (ИИ). Его история применения в трансплантологии почки берет начало в 1960–1980-х годах с внедрения машинного обучения для разработки иммуносупрессивных препаратов и мониторинга. Концепция глубокого обучения, представленная в 2006 году, и последующий бум технологий после

2010 года, включая появление *ChatGPT* (*Chat – Generative Pre-trained Transformer*: генерирующий предварительно обученный трансформер), сыграли решающую роль в обработке больших данных и оптимизации клинических процессов, что привело к стремительному развитию приложений ИИ с 2017 года [18, 22, 23].

Учитывая вышеизложенное, становится очевидным, что историческое развитие хирургических моделей и технологий в урологии представляет собой поступательное движение от фундаментальных анатомических исследований через становление этических стандартов и разработку микрохирургических техник к текущей эре интеграции роботических систем и искусственного интеллекта, определяющей будущее точной и персонализированной трансплантологии.

Модели трансплантации почки: от грызунов к крупным животным

Трансплантация почки является основным методом лечения терминальной стадии почечной недостаточности (ТСПН), однако по-прежнему существуют проблемы с подбором донора и реципиента, послеоперационным уходом и иммуносупрессивной терапией [18].

Исторически модели на грызунах доминировали в исследованиях по изучению иммунных механиз-

1-й ЭТАП. Разработка протокола обзора

Постановка цели и задач

Формулировка исследовательского вопроса по принципу PICOS

- **Популяция (P):** доклинические исследования на лабораторных животных
- **Вмешательство (I):** хирургические модели трансплантации тканей/органов
- **Сравнение (C):** сопоставление различных хирургических подходов (ортотопическая и гетеротопическая трансплантация)
- **Исходы (O):** выживаемость трансплантата, послеоперационные осложнения, валидность модели
- **Дизайн исследования (S):** экспериментальные исследования, протоколы операций

Определение критериев: четкие параметры для включения/исключения исследований (вид животных, тип хирургического вмешательства, сроки наблюдения)

2-й ЭТАП. Систематический поиск и отбор литературы с использованием принципов PRISMA

Стратегия поиска

- **Базы данных:** Scopus, PubMed, РИНЦ
- **Ключевые слова:** «хирургические модели *in vivo*», «методы трансплантации», «методики эксплантации», «доклинические исследования», «модели на животных» + их англоязычные аналоги.

Процесс отбора

- **Первичный результат:** 200 публикаций
- **Этап 1 (скрининг):** исключение по заголовкам/аннотациям (несоответствие теме, дубликаты) → ~120 статей
- **Этап 2 (оценка полного текста):** проверка по критериям PICOS, качество описания методики → 75 исследований

Регистрация: составление диаграммы потока PRISMA с указанием причин исключения

3-й ЭТАП. Извлечение данных и оценка их качества

Извлечение данных по стандартной форме

- Характеристики модели (вид животного, линия, пол, вес)
- Тип хирургического вмешательства (ортотопическая, гетеротопическая трансплантация)
- Методика эксплантации и критерии оценки результата
- Учет этических норм и условий содержания животных

Критическая оценка

- **Риск систематических ошибок:** оценка рандомизации, ослепления, размера выборки
- **Качество хирургического протокола:** полнота описания анестезии, техники шва, послеоперационного ухода

4-й ЭТАП. Синтез и анализ данных с применением TRIZ

Качественный синтез

- Классификация моделей по типу трансплантата (кожа, почка, печень, микрохирургические модели)
- Сравнение эффективности различных хирургических доступов и методик

Системный анализ (TRIZ)

- **Выявление противоречий:** например, «мини-инвазивность и визуализация операционного поля»
- **Определение пробелов:** недостаточная стандартизация протоколов эксплантации для оценки отдаленных результатов

5-й ЭТАП. Интерпретация результатов и формулировка выводов

Анализ тенденций

- Эволюция от классических моделей к микрохирургическим и трансгенным
- Роль визуализации (ОФЭКТ, МРТ) в мониторинге приживления трансплантата

Оценка силы доказательств: выводы основаны на анализе 75 исследований с детализированными хирургическими протоколами

Практические рекомендации: стандартизация этапов трансплантации/эксплантации для повышения воспроизводимости доклинических исследований

6-й ЭТАП. Подготовка отчета и верификация

Структура отчета: полный отчет по пунктам контрольного списка PRISMA 2020

Визуализация: диаграммы, сравнительные таблицы хирургических методик

Экспертная оценка: рецензирование хирургами-экспериментаторами на предмет корректности интерпретации методик

Рис. Блок-схема методологии научного обзора. TRIZ (Theory of Inventive Problem Solving) – теория решения изобретательских задач; PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) – предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализов

Fig. Flowchart of the scientific review methodology. TRIZ (Theory of Inventive Problem Solving) – a framework for solving inventive problems; PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) – a guideline for reporting systematic reviews and meta-analyses

мов, почечной гипертензии, механизмов отторжения [24, 76]. Так, ортотопическая модель трансплантации почки у крысы используется для изучения различных аспектов трансплантации почки, таких как острое, хроническое, клеточное или антителоопосредованное отторжение [77, 78]. Модель васкуляризированной трансплантации почек, выполняемая на мышах, – для изучения механизмов толерантности и отторжения трансплантата, ишемически-реперфузионного повреждения [79, 80].

Модели на мелких животных являются предпочтительными для исследований, подтверждающих концепцию и разработку протоколов, но, к сожалению, часто не подходят для клинического применения. Для отработки хирургической техники, оценки жизнеспособности трансплантата и изучения долгосрочных осложнений необходимы модели, воспроизводящие анатомо-физиологические особенности человека. Первые попытки трансплантации почек в экспериментах на собаках и козах были проведены в начале XX века [83]. На сегодняшний день модели на свиньях стали «золотым стандартом» благодаря схожести размера и анатомии почек, а также возможности выполнения сложных сосудистых анастомозов [25, 26]. Еще одним преимуществом моделей, воспроизводимых на этих млекопитающих, является сходная с человеческой структура комплекса MHC. Это особенно важно при проведении трансплантации органов.

Использование свиней с генетическими модификациями (нокаут генов ксеногенных антигенов, таких как *α-Gal*) позволило моделировать ксенотрансплантацию и отрабатывать стратегии преодоления сверхострого отторжения [25, 27]. Ортотопическая трансплантация почки у свиней с применением гипотермической машинной перфузии (ГМП) с добавлением мелатонина продемонстрировала снижение реперфузионного повреждения на 40%, что подтверждает потенциал фармакологического сопровождения консервации органов [28].

Свиньи также были использованы для создания специального устройства для элиминации вторичной тепловой ишемии, которое позволяет оптимально охлаждать трансплантат в течение всей имплантации [84]. В клинической практике данный способ профилактики ишемии позволит безопасно и эффективно снизить частоту отсроченной функции трансплантата – одного из самых частых послеоперационных осложнений.

Модели в урологической имплантологии и реконструктивной хирургии

Модели на мелких животных (крысах, мышах, кроликах) широко используются для изучения хирургических техник, заживления ран, оценки эффективности новых хирургических инструментов или процедур. Модели на животных сыграли решающую роль в совершенствовании лапароскопических операций и малоинвазивных методик, предполагающих выполнение небольших разрезов для минимизации времени восстановления и снижения риска инфицирования.

Крупные животные (свиньи, собаки, овцы, приматы) предлагают значительные преимущества при изучении сложных хирургических процедур благодаря своему анатомическому и физиологическому сходству с людьми, их размер позволяет использовать те же хирургические инструменты и методы, что и у людей, тем самым повышая актуальность результатов. Крупные животные часто используются в доклинических испытаниях новых технологий в трансплантологии, сосудистой хирургии, ортопедии.

Прежде чем любой новый имплантат может быть внедрен в клиническую практику человека, он должен пройти тестирование для обеспечения его безопасности, эффективности и биосовместимости. Животные модели предоставляют важные средства оценки того, как имплантаты функционируют в живом организме, позволяя изучать взаимодействие между организмом и инородными материалами, наблюдать, как иммунная система реагирует на имплантат, интегрируется ли ткань с материалом и возникают ли какие-либо долгосрочные осложнения [81]. Эти модели позволяют оценить долговечность и функциональность имплантатов в условиях, которые максимально имитируют биологию человека.

Моделирование на животных имеет решающее значение для оценки новых методов лечения. Так, например, изучение костных инфекций и остеомиелита осуществляют на овцах благодаря схожести костной структуры этих животных и человека. Использование этих животных позволяет оценить функциональную эффективность методов коррекции пролапса тазовых органов [17, 29].

Козы в качестве модельных животных используются для разработки способа лечения больших дефектов мочеточника (реконструкции), когда традиционные хирургические методы не могут быть использованы, а донорские ткани недоступны [82].

Конечно, эталонной моделью во многих биомедицинских исследованиях являются нечеловекообразные приматы, но их применение ограничено [17].

Технологические инновации в урологической хирургии и трансплантологии

Следующим закономерным этапом эволюции хирургических моделей *in vivo* стала их технологическая трансформация. Если ранее эволюция касалась в основном выбора вида животного, то современный

этап характеризуется высокотехнологичными системами, которые трансформируют саму суть хирургического вмешательства. Роботические ассистивные системы и алгоритмы искусственного интеллекта перестали быть просто инструментами; они стали неотъемлемыми компонентами новой гибридной хирургической модели, где действия хирурга усиливаются и дополняются машиной. Это знаменует переход от биологической эволюции моделей к их кибернетической эволюции, что кардинально повышает точность, воспроизводимость и прогнозируемость результатов.

Интеграция роботизированных систем, таких как *da Vinci, Senhance* и *Versius*, произвела революцию в минимально инвазивной урологической хирургии [19, 33–35]. Роботизированная трансплантация почки (*RAKT*) демонстрирует значительные преимущества по сравнению с открытым доступом: снижение интраоперационной кровопотери, уменьшение длины разреза, меньшая частота раневых инфекций и лимфоцеле [21, 36, 37]. Технологической основой являются роботизированные манипуляторы, обеспечивающие точность движений [36, 38], телеоперация «ведущий–ведомый» [39, 40], 3D-визуализация высокого разрешения [40] и тактильная обратная связь [39]. Благодаря передовым хирургическим методам хирурги получают полный контроль над сложными операциями, эффективно воздействуя на анатомические области и сводя к минимуму человеческий фактор [33, 41, 42]. Влияние роботизированной хирургии распространилось даже на неотложные операции [43], а совершенствование технологий, включающее системы принятия решений на основе ИИ, приведет к тому, что роботизированная хирургия станет доминирующей [44–47].

В настоящее время применение ИИ охватывает все этапы оказания помощи пациентам в урологии и трансплантологии [18].

При удалении простаты (простатэктомия) системы, основанные на ИИ, помогают хирургу сохранить нервные структуры, ответственные за эректильную функцию, улучшая качество жизни пациентов после операции; при нефрэктомии с роботизированной поддержкой – иссекать опухоль, минимизируя повреждения здоровых тканей и снижая риск послеоперационных осложнений [85]. ИИ также применяют при проведении ретроградной интраренальной хирургии [86].

Системы компьютерной поддержки CAS (Computer Aided или Assisted Surgery – CAS-технологии) включают 3D-визуализацию, 3D-анатомическое моделирование и расширенный анализ, что позволяет до операции проанализировать структуру и кровоснабжение органа, разработать методики и программные средства по предоперационному и интраоперационному планированию хирургического вмешательства [87].

С 2017 года наблюдается стремительное развитие приложений ИИ [18], которые позволяют оптимизировать подбор «донор–реципиент», а также листы ожидания в системах типа *UNOS* (*United Network for Organ Sharing*: объединенная сеть по обмену органами) [50].Так, алгоритмы машинного обучения, в частности градиентный бустинг – *XGBoost* (*Extreme gradient boosting*: экстремальный градиентный бустинг), демонстрируют точность до 99% в прогнозировании совместимости [48, 49].

ИИ активно используется в интраоперационной навигации и планировании. Предоперационное 3D-моделирование на основе компьютерной (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ), интегрируемое в роботизированные системы, позволяет точно планировать ход операции [51]. В настоящее время с использованием инструментов ИИ активно разрабатываются системы дополненной реальности для интраоперационной визуализации сосудов [21, 52].

Доказано, что алгоритмы глубокого обучения, такие как *DRSA-U-Net* (*Deformable Residual Spatial Attention U-Net:* U-образная сеть с деформируемым остаточным слоем пространственного внимания), значительно повышают четкость МРТ-изображений для ранней диагностики осложнений, тем самым совершенствуя процессы послеоперационного мониторинга и ведения пациента [52]. Установлено, что системы телемедицинского мониторинга позволяют дистанционно контролировать уровень иммуносупрессантов; мобильные приложения помогают снизить колебания концентрации такролимуса [53, 54].

ИИ позволил расширить возможности в аспекте совершенствования точности при прогнозировании отдаленных исходов. В научной литературе имеются данные о том, что модели на основе ИИ, такие как *DISPO* (*DIScharge POtential*: модель для прогнозирования потенциала выписки), превосходят традиционные методы в прогнозировании выживаемости трансплантата [55–57]. Исследования показывают, что в некоторых случаях системы ИИ могут превосходить врачей в прогнозировании долгосрочной несостоятельности трансплантата [58].

Благодаря использованию ИИ в трансплантологии появилась возможность прогнозирования отторжения пересаживаемого органа на генетическом уровне. В научной литературе упоминаются инструменты типа *KID9+3* (*Kidney injury diagnosis 9+3*: геномный классификатор для идентификации специфических молекулярных сигнатур, связанных с повреждением и отторжением почки) и *PRESTO* (*Profile ranking expression signatures tool organization:* вычислительный инструмент для анализа сигнатур экспрессии генов), которые позволяют идентифицировать молекулярные

фенотипы отторжения по данным профилирования экспрессии генов [59–63].

Современные стратегии консервации, доставки и иммуномодуляции

Эволюция методов машинной перфузии, как стандарта почечного трансплантата, характеризуется активным вытеснением статического холодового хранения на нормотермическую машинную перфузию (НМП). НМП с использованием оксигенированных перфузатов способствует восстановлению энергетического метаболизма, повышая уровень аденозинтрифосфата (АТФ) в почках на 300% [28]. Это создает «терапевтическое окно» для оценки жизнеспособности и направленной доставки лекарственных средств [32]. Перспективным направлением является криоконсервация с использованием методов витрификации, которые повышают скорость извлечения эксплантатов до 90% [30]. Опыт трансплантации печени и кишечника показал, что гипотермическая машинная перфузия повышает жизнеспособность трансплантата на 40% [63], а нормотермическая региональная перфузия в сочетании с экстракорпоральной мембранной оксигенацией сокращает время теплой ишемии на 30–50% [64], что подтверждает эффективность этих методов и для урологии.

Перспективным направлением в трансплантологии является разработка наноплатформ для таргетной доставки иммуносупрессантов к трансплантированному органу. Мукоадгезивные наночастицы демонстрируют увеличение кишечной абсорбции препаратов в 4 раза [65]. Доказано, что локальная иммуномодуляция с помощью наноструктур на основе нуклеиновых кислот позволяет доставлять иммунодепрессанты к местам трансплантации, снижая системную токсичность и инфильтрацию Т-клетками на 60% [66].

В практике трансплатологии аллосенсибилизация реципиентов остается серьезной проблемой [67]. Современные протоколы десенсибилизации включают ингибиторы протеасом (бортезомиб) и антитела к *C5*, что позволяет снизить титры донор-специфических антител (*DSA – Donor-specific antibodies*) более чем на 50% [67]. Перспективными считаются клеточные технологии, в частности инфузия аутологичных регуляторных Т-лимфоцитов (*Treg – T-regulatory cells*: регуляторные Т-лимфоциты), которые индуцируют устойчивую толерантность в 60% случаев [68]. Комбинация Treg-терапии с блокадой костимуляционных молекул (*CD40/CD40L*) на моделях позволяет продлить выживаемость трансплантата без хронической иммуносупрессии [26]. Фундаментальные исследования в области трансплантации органов продолжают активно развиваться, чтобы глубже изучить биологические принципы отторжения и иммунной толерантности [69]. В 2020 году были достигнуты значительные успехи в ингибировании функции иммунных клеток и подавлении иммунных сигнальных путей [69], что закладывает основу для новых клинических стратегий.

Современные стратегии эксплантации в доклинических исследованиях

Современные доклинические исследования все чаще обращаются к стратегиям эксплантации, которые позволяют изучать органы и ткани в условиях, максимально приближенных к живым организмам, но вне их. Эти подходы заполняют критический пробел между традиционными 2D-культурами клеток и сложными, дорогостоящими и этически неоднозначными экспериментами на целых организмах. Этот вопрос особенно актуален и для урологии.

В настоящее время ключевым направлением стали мультиорганные платформы *ex vivo*. В научной литературе имеются данные о том, что системы экстракорпоральной перфузии легких позволяют не только оценивать жизнеспособность трансплантата перед операцией, но и проводить его фармакологическую или генетическую «подготовку». Как показали исследования, доставка векторов генной терапии во время перфузии способна снижать уровень провоспалительных цитокинов (таких как *TNF-α* и *IL-6*) на 70% [32]. Аналогичные платформы, активно разрабатываемые для почек, представляют особый интерес для урологии, так как позволяют тестировать новые методы консервации и лечения.

Важным прорывом является развитие методов криоконсервации, в частности витрификации. Эти технологии значительно повышают скорость успешного извлечения эксплантатов (до 90%) и позволяют хранить органы в течение нескольких недель, открывая перспективу создания настоящих «банков» трансплантатов [30]. Это направление напрямую связано с задачей преодоления дефицита донорских органов, остро стоящей перед урологами-трансплантологами.

Модели на крупных животных остаются незаменимыми для валидации методов эксплантации в условиях, воспроизводящих человеческую анатомию и патофизиологию. Модели на овцах для изучения остеомиелита, на свиньях для эксплантации сердца или васкуляризированной композитной аллотрансплантации (ВКА) демонстрируют патофизиологическую точность более 85% [25, 67]. Эти модели позволяют отрабатывать хирургические техники извлечения и последующей обработки тканей, а также изучать отдаленные осложнения, что имеет прямое значение для совершенствования урологических операций, таких как нефрэктомия с последующей аутотрансплантацией.

Особый интерес для урологической исследовательской практики представляют 3D-биомиметические системы, такие как костные эксплантаты *ex vivo*. Они сохраняют нативную клеточную микросреду и трехмерную архитектуру, что позволяет в режиме реального времени изучать ключевые процессы: остеоинтеграцию, миграцию иммунных клеток и взаимодействие остеоцитов – явления, которые невозможно воспроизвести в традиционных 2D-культурах [70, 71]. Хотя прямое применение таких моделей в урологии ограничено, принцип сохранения сложной тканевой архитектуры является крайне важным для разработки, например, биоискусственных мочевых пузырей или тестирования имплантатов для реконструктивной урологии.

Учитывая вышеизложенное, становится очевидным, что современные стратегии эксплантации, включающие перфузионные платформы, усовершенствованную криоконсервацию и сложные биомиметические модели, становятся мощным инструментом в доклинической урологии и трансплантологии. Они позволяют проводить высокоточные исследования на человеко-релевантных тканях, минимизируя использование лабораторных животных и ускоряя трансляцию инновационных методов в клиническую практику.

Междисциплинарные перспективы хирургии почки

Доклинические исследования в урологии вступили в эру междисциплинарной интеграции. Опыт других областей науки, таких как регенеративная медицина, где нейральные стволовые клетки рассматриваются как перспективный вариант лечения травмы спинного мозга благодаря свойству дифференцировки в нейроны и модуляции воспаления [72], или ортопедия, где 3D-костные эксплантаты *ex vivo* сохраняют микросреду для изучения остеоинтеграции [70, 71], демонстрируют универсальность многих технологических платформ. Адаптация этих подходов к задачам урологии, в том числе в области использования принципов регенеративной медицины для восстановления уротелия или применения 3D-моделей для изучения биосовместимости урологических имплантатов, является перспективным направлением. Анализ современной мировой литературы выявляет в последние 10 лет увеличение числа исследований, посвященных вопросам ксенотрансплантации (на 35%), машинной перфузии (на 28%) и доставки наночастиц (на 22%) [73]. Однако сохраняются проблемы: только 32% исследований подтверждают результаты более чем в двух доклинических моделях, что ограничивает надежность трансляции полученных результатов исследований в практику [74].

Опыт хирургических практик подтверждает важность адекватного выбора биологической модели. Так, в кардиохирургии использование генетически модифицированных свиней-доноров с редактированием провоспалительных генов и перфузией с мРНК позволило достичь 50% снижения отторжения сердечных ксенотрансплантатов у приматов [28, 30], что задает высокий стандарт для урологических исследований в области ксенотрансплантации почки [27, 31]. Аналогично успешное применение моделей на свиньях для васкуляризированной композитной аллотрансплантации (ВКА), где блокада костимуляции в сочетании с *Treg*-терапией продлевает жизнь трансплантата [26], демонстрирует перспективность комбинированных иммунологических подходов, актуальных и для урологии. Исследования в области трансплантации легких, где мультиорганные платформы *ex vivo* с машинной перфузией позволяют оценить функцию трансплантата и снизить уровень провоспалительных биомаркеров на 70% [32], указывают на потенциальные пути совершенствования методов консервации почечного трансплантата в урологической хирургической практике.

На основе анализа научных публикаций, безусловно, можно заключить, что перспективными направлениями медицины являются персонализированная медицина (внедрение мультиомных технологий для создания индивидуализированных схем); развитие биоинженерных подходов (создание биоискусственных органов); ксенотрансплантация (пересадка органов от одного биологического вида другому: трансплантация почки от генетически модифицированной свиньи человеку [31, 75]); стандартизация и валидация [73].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение испытаний на лабораторных животных необходимо, особенно при выполнении хирургических операций, моделирование которых математически невозможно.

Проведенный анализ эволюции хирургических моделей *in vivo* в доклинической урологии демонстрирует четкую траекторию развития от фундаментальных анатомических исследований к сложным, технологически насыщенным и этически обоснованным системам. Ключевым вектором этой эволюции стал переход от простого анатомического подобия к достижению комплексной патофизиологической релевантности, что потребовало смены парадигмы в выборе биологических моделей – от доминирования грызунов к использованию крупных животных для отработки хирургической техники и оценки отдаленных последствий.

Современный этап характеризуется переходом от биологических к кибернетическим моделям. Роботизированные системы и искусственный интеллект

обеспечили беспрецедентную точность, минимальную инвазивность и возможности для прогнозирования исходов. Эксплантация (*ex vivo*) стала неотъемлемым элементом доклинических исследований, заполнив пробел между клеточными культурами и экспериментами на целых организмах. Перфузионные платформы, усовершенствованная криоконсервация и 3D-биомиметические системы позволяют проводить высокоточные исследования на человекорелевантном материале, минимизируя использование лабораторных животных в соответствии с принципом *3R* и ускоряя трансляцию результатов в клинику.

Важнейшим трендом является междисциплинарная конвергенция. Опыт кардиохирургии, трансплантологии, ортопедии и регенеративной медицины предоставляет универсальные технологические платформы и протоколы, адаптация которых открывает новые возможности для урологии. Перспективы дальнейшего развития связаны с углублением персонализации (применение мультиомных технологий и ИИ), развитием биоинженерии (создание биоискусственных органов), прогрессом в области ксенотрансплантации, и что крайне важно, со стандартизацией и валидацией доклинических моделей для повышения воспроизводимости и трансляционной ценности данных.

Таким образом, современная хирургическая модель *in vivo* в урологии представляет собой гибридную, многоуровневую систему, включающую роботизированные ассистивные технологии, алгоритмы искусственного интеллекта и методы работы *ex vivo*.

Несмотря на успехи в использовании ИИ имеется ряд факторов, сдерживающих его применение в хирургии. Это стандартизация исходных данных, учет атипичных случаев, риск смещения используемой выборки, прозрачность процесса принятия решений в моделях машинного обучения. По мере развития технологий модели, воспроизводимые на животных, вероятно, останутся неотъемлемой частью медицинских исследований, взаимодействуя с новыми технологическими достижениями и способствуя разработке новых инновационных методов лечения.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Haam S, Noda K, Philips BJ, Harano T, Sanchez PG, Shigemura N*. Cyclosporin A administration during *ex vivo* lung perfusion preserves lung grafts in rat transplant model. *Transplantation*. 2020; 104 (9): e252–e259. doi: 10.1097/TP.0000000000003237.
2. *Woillard JB, Labriffe M, Debord J, Marquet P*. Mycophenolic acid exposure prediction using machine learning. *Clin Pharmacol Ther*. 2021; 110 (2): 370–379. doi: 10.1002/cpt.2216.
3. *Divard G, Raynaud M, Tatapudi VS, Abdalla B, Bailly E, Assayag M et al*. Comparison of artificial intelligence and human-based prediction and stratification of the risk of long-term kidney allograft failure. *Commun Med (Lond)*. 2022; 2 (1): 150. doi: 10.1038/s43856-022-00201-9.
4. *Li H, Han Z, Wu H, Musaev ER, Lin Y, Li S et al*. Artificial intelligence in surgery: evolution, trends, and future directions. *Int J Surg*. 2025; 111 (2): 2101–2111. doi: 10.1097/JS9.0000000000002159.
5. *Shan J*. Surgical Robotics: Recent Development Trends and Challenges. In: 2025 IEEE International Conference on Robotics and Technologies for Industrial Automation (ROBOTHIA). 2025: 1–6. doi: 10.1109/ROBOTHIA63806.2025.10986348.
6. *Cole BJ, Chahla JA, Chubinskaya SG, Gilat R, Frank RM, Yanke AB*. Optimizing Patient Outcomes Following Osteochondral Allograft Transplantation: The Impact of 25 Years of Translational and Clinical Research. *J Orthop Res*. 2025; 43 (10): 1705–1723. doi: 10.1002/jor.26089.
7. *Ali H, Shroff A, Soliman K, Molnar MZ, Sharif A, Burke B et al*. Improved survival prediction for kidney transplant outcomes using artificial intelligence-based models: development of the UK Deceased Donor Kidney Transplant Outcome Prediction (UK-DTOP) Tool. *Ren Fail*. 2024; 46 (2): 2373273. doi: 10.1080/0886022X.2024.2373273.
8. *Sundaram V, Infant SS, Saravanan A, Bhavani SB, Gulothungan G, Arora S, Chopra H*. Innovative animal models for surgical interventions and implant biocompatibility: a translational perspective. *Ann Med Surg (Lond)*. 2025 Jul 18; 87 (10): 6496–6509. doi: 10.1097/MS9.0000000000003610.
9. *Kovesdy CP*. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl*. 2022; 12 (1): 7–11. doi: 10.1016/j.kisu.2021.11.003.
10. *Flythe JE, Watnick S*. Dialysis for chronic kidney failure: a review. *JAMA*. 2024; 332 (18): 1559–1573. doi: 10.1001/jama.2024.16338.
11. *Lewis A, Koukoura A, Tsianos GI, Gargavanis AA, Nielsen AA, Vassiliadis E*. Organ donation in the US and Europe: the supply vs demand imbalance. *Transplant Rev (Orlando)*. 2021; 35 (2): 100585. doi: 10.1016/j.trre.2020.100585.
12. *Meier RPH, Ben Nasr M, Fife BT, Finger EB, Fiorina P, Luo X, Bromberg JS*. Best practices in islet transplantation in mice. *Am J Transplant*. 2025; 25 (7): 1399–1409. doi: 10.1016/j.ajt.2025.03.008.
13. *Garcia Valencia OA, Thongprayoon C, Jadlowiec CC, Mao SA, Leeaphorn N, Budhiraja P et al*. Evaluating Global and Temporal Trends in Pancreas and Islet Cell Transplantation: Public Awareness and Engagement. *Clin Pract*. 2024; 14 (2): 590–601. doi: 10.3390/clinpract14020046.
14. *Son J, Shin JY, Kim HD, Jung KH, Park KH, Park SJ*. Development and validation of deep learning models for screening multiple abnormal findings in retinal fun-

dus images. *Ophthalmology*. 2020; 127 (1): 85–94. doi: 10.1016/j.ophtha.2019.05.029.
15. *Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD et al*. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021; 372: n71. doi: 10.1136/bmj.n71.
16. *Ilevbare IM, Phaal R, Probert DR*. A review of TRIZ, and its benefits and challenges in practice. *Technovation*. 2013; 33 (2–3): 30–37. doi: 10.1016/j.technovation.2012.11.003.
17. *Seifalian A, Digesu A, Khullar V*. The use of animal models in preclinical investigations for the development of a surgical mesh for pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J*. 2024; 35 (4): 741–758. doi: 10.1007/s00192-024-05741-3.
18. *He YJ, Liu PL, Wei T, Liu T, Li YF, Yang J, Fan WX*. Artificial intelligence in kidney transplantation: a 30-year bibliometric analysis of research trends, innovations, and future directions. *Ren Fail*. 2025; 47 (1): 2458754. doi: 10.1080/0886022X.2025.2458754.
19. *Rojas Burbano JC, Ruiz NI, Rojas Burbano GA, Guacho Inca JS, Arragan Lezama CA, González MS*. Robot-Assisted Surgery: Current Applications and Future Trends in General Surgery. *Cureus*. 2025; 17 (4): e82318. doi: 10.7759/cureus.82318.
20. *Barandiaran Cornejo JF, Chin LT, Angelis M*. From Carrel to Robotics: Renal Transplantation and the Evolution of its Surgical Technique. *Curr Urol Rep*. 2025; 26 (1). doi: 10.1007/s11934-025-01265-5.
21. *Zeuschner P, Friedersdorff F, Siemer S, Stöckle M*. Aktuelles zur robotischen Nierentransplantation – quo vadis? *Urologie*. 2024; 63 (4): 361–366. doi: 10.1007/s00120-024-02293-8.
22. *Kalyan KS, Rajasekharan A, Sangeetha S*. AMMU: a survey of transformer-based biomedical pretrained language models. *J Biomed Inform*. 2022; 126: 103982. doi: 10.1016/j.jbi.2021.103982.
23. *Dave T, Athaluri SA, Singh S*. ChatGPT in medicine: an overview of its applications, advantages, limitations, future prospects, and ethical considerations. *Front Artif Intell*. 2023; 6: 1169595. doi: 10.3389/frai.2023.1169595.
24. *Xie C, Piao M, Zhou L, Tao X, Yao Y, Jiang B et al*. Emerging trends and hotspots in animal experimental research on lung transplantation from 2004 to 2023: a bibliometric analysis. *J Thorac Dis*. 2025; 17 (2): 796–815. doi: 10.21037/jtd-24-1451.
25. *Heinis FI, Merani S, Markin NW, Duncan KF, Moulton MJ, Fristoe L et al*. Considerations for the use of porcine organ donation models in preclinical organ donor intervention research. *Anim Model Exp Med*. 2024; 7 (3): 283–296. doi: 10.1002/ame2.12411.
26. *Matar AJ, Crepeau RL, Mundinger GS, Cetrulo CL Jr, Torabi R*. Large Animal Models of Vascularized Composite Allotransplantation: A Review of Immune Strategies to Improve Allograft Outcomes. *Front Immunol*. 2021; 12: 664577. doi: 10.3389/fimmu.2021.664577.
27. *Byrne GW, McGregor CGA*. 2025: status of cardiac xenotransplantation including preclinical models. *Front Transplant*. 2025; 4: 1568910. doi: 10.3389/frtra.2025.1568910.
28. *Niroomand A, Nita GE, Lindstedt S*. Machine Perfusion and Bioengineering Strategies in Transplantation. Beyond the Emerging Concepts. *Transpl Int*. 2024; 37: 13215. doi: 10.3389/ti.2024.13215.
29. *Beagan MLC, Dreyer CH, Jensen LK, Jensen HE, Andersen TE, Overgaard S, Ding M*. The potential of sheep in preclinical models for bone infection research. A systematic review. *J Orthop Transl*. 2024; 45: 120–131. doi: 10.1016/j.jot.2024.02.002.
30. *Cutrone AM, Ozgur OS, Lyon A, Longchamp A, Madsen JC, Yeh H, Uygun K*. Cryopreservation Strategies to Improve Access to Organ Transplantation. *Transplantation*. 2026 Jan 1; 110 (1): e42–e54. doi: 10.1097/TP.0000000000005494.
31. *Kawai T, Williams WW, Elias N, Fishman JA, Crisalli K, Longchamp A et al*. Xenotransplantation of a Porcine Kidney for End-Stage Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2025; 392 (19): 1933–1940. doi: 10.1056/NEJMoa2412747.
32. *Nykänen AI, Keshavjee S, Liu M*. Creating superior lungs for transplantation with next-generation gene therapy during *ex vivo* lung perfusion. *J Heart Lung Transplant*. 2024; 43 (5): 838–848. doi: 10.1016/j.healun.2024.01.016.
33. *Biswas P, Sikander S, Kulkarni P*. Recent advances in robot-assisted surgical systems. *Biomed Eng Adv*. 2023; 6: 100109. doi: 10.1016/j.bea.2023.100109.
34. Intuitive Surgical. Da Vinci X: a foundational entry point to robotic surgery. 2025. https://www.intuitive.com/en-us/products-and-services/da-vinci/x.
35. *Krebs TF, Kayser T, Lorenzen U, Grünewald M, Kayser M, Saltner A et al*. Evaluation of the Versius robotic system for infant surgery – a study in piglets of less than 10 kg body weight. *Children (Basel)*. 2023; 10 (5): 831. doi: 10.3390/children10050831.
36. *Hancock KJ, Klimberg VS, Nunez-Lopez O, Gajjar AH, Gomez G, Tyler DS, Rashidi L*. Optimizing outcomes in colorectal surgery: cost and clinical analysis of robotic versus laparoscopic approaches to colon resection. *J Robot Surg*. 2022; 16: 107–112. doi: 10.1007/s11701-021-01205-8.
37. *Reddy K, Gharde P, Tayade H, Patil M, Reddy LS, Surya D*. Advancements in robotic surgery: a comprehensive overview of current utilizations and upcoming frontiers. *Cureus*. 2023; 15 (12): e50415. doi: 10.7759/cureus.50415.
38. *Sheetz KH, Claflin J, Dimick JB*. Trends in the adoption of robotic surgery for common surgical procedures. *JAMA Netw Open*. 2020; 3 (1): e1918911. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.18911.
39. *Liu Q, Zhang W, Zhao JJ, Syn NL, Cipriani F, Alzoubi M et al*. Propensity-score matched and coarsened-exact matched analysis comparing robotic and laparoscopic major hepatectomies: an international multicenter study of 4822 cases. *Ann Surg*. 2023; 278: 969–975. doi: 10.1097/SLA.0000000000005855.
40. *Rivero-Moreno Y, Echevarria S, Vidal-Valderrama C, Pianetti L, Cordova-Guilarte J, Navarro-Gonzalez J et al*. Robotic surgery: a comprehensive review of the

literature and current trends. *Cureus*. 2023; 15 (7): e42370. doi: 10.7759/cureus.42370.
41. *Cepolina F, Razzoli RP*. An introductory review of robotically assisted surgical systems. *Int J Med Robot*. 2022; 18 (4): e2409. doi: 10.1002/rcs.2409.
42. *AlSajri AA, Hariry N*. The future of surgery: robotic-assisted procedures and their impact. *SHIFAA*. 2024; 2024: 52–55.
43. *Lunardi N, Abou-Zamzam A, Florecki KL, Chidambaram S, Shih IF, Kent AJ et al*. Robotic technology in emergency general surgery cases in the era of minimally invasive surgery. *JAMA Surg*. 2024; 159 (5): 493–499. doi: 10.1001/jamasurg.2024.0016.
44. *Perry R, Barbosa JP, Perry I, Barbosa J*. Short-term outcomes of robot-assisted versus conventional minimally invasive esophagectomy for esophageal cancer: a systematic review and meta-analysis of 18,187 patients. *J Robot Surg*. 2024; 18: 123. doi: 10.1007/s11701-024-01880-3.
45. *Picozzi P, Nocco U, Labate C, Gambini I, Puleo G, Silvi F et al*. Advances in robotic surgery: a review of new surgical platforms. *Electronics*. 2024; 13 (23): 4675. doi: 10.3390/electronics13234675.
46. *Bobade S, Asutkar S*. Current trends and future directions in surgery: a brief scoping review. *Multidiscip Rev*. 2025; 8: 2025028. doi: 10.31893/multirev.2025028.
47. *Wehrle CJ, Chang JH, Gross AR, Woo K, Naples R, Stackhouse KA et al*. Comparing oncologic and surgical outcomes of robotic and laparoscopic pancreatoduodenectomy in patients with pancreatic cancer: a propensity-matched analysis. *Surg Endosc*. 2024; 38 (5): 2602–2610. doi: 10.1007/s00464-024-10783-1.
48. *Paquette FX, Ghassemi A, Bukhtiyarova O, Cisse M, Gagnon N, Della Vecchia A et al*. Machine learning support for decision-making in kidney transplantation: step-by-step development of a technological solution. *JMIR Med Inform*. 2022; 10 (6): e34554. doi: 10.2196/34554.
49. *Alowidi N, Ali R, Sadaqah M, Naemi FMA*. Advancing kidney transplantation: a machine learning approach to enhance donor-recipient matching. *Diagnostics (Basel)*. 2024; 14 (19): 2119. doi: 10.3390/diagnostics14192119.
50. *Zingraf G, Derkowski DM, Pizarro YI, Woodard A*. U.S. Organ Transplantation System – its history, present, and future. *Nephrol Nurs J*. 2023; 50 (3): 197–202. doi: 10.37526/1526-744X.2023.50.3.197.
51. *Dagnino G, Kundrat D*. Robot-assistive minimally invasive surgery: trends and future directions. *Int J Intell Robot Appl*. 2024; 8: 812–826. doi: 10.1007/s41315-024-00340-3.
52. *Liu H, Ren L, Fan B, Wang W, Hu X, Zhang X*. Artificial intelligence algorithm-based MRI in the diagnosis of complications after renal transplantation. *Contrast Media Mol Imaging*. 2022; 2022: 8930584. doi: 10.1155/2022/8930584.
53. *Mata-Lima A, Paquete AR, Serrano-Olmedo JJ*. Remote patient monitoring and management in nephrology: a systematic review. *Nefrologia*. 2024; 44 (5): 639–667. doi: 10.1016/j.nefroe.2024.10.011.
54. *Yeter HH, Manani SM, Ronco C*. The utility of remote patient management in peritoneal dialysis. *Clin Kidney J*. 2021; 14 (12): 2483–2489. doi: 10.1093/ckj/sfab111.
55. *Raynaud M, Aubert O, Divard G, Reese PP, Kamar N, Yoo D et al*. Dynamic prediction of renal survival among deeply phenotyped kidney transplant recipients using artificial intelligence: an observational, international, multicohort study. *Lancet Digit Health*. 2021; 3 (12): e795–e805. doi: 10.1016/S2589-7500(21)00209-0.
56. *Thongprayoon C, Miao J, Jadlowiec C, Mao SA, Mao M, Leeaphorn N et al*. Distinct clinical profiles and post-transplant outcomes among kidney transplant recipients with lower education levels: uncovering patterns through machine learning clustering. *Ren Fail*. 2023; 45 (2): 2292163. doi: 10.1080/0886022X.2023.2292163.
57. *Badrouchi S, Bacha MM, Ahmed A, Ben Abdallah T, Abderrahim E*. Predicting long-term outcomes of kidney transplantation in the era of artificial intelligence. *Sci Rep*. 2023; 13 (1): 21273. doi: 10.1038/s41598-023-48645-w.
58. *Garcia Valencia OA, Thongprayoon C, Miao J, Bruminhent J, Craici IM, Cheungpasitporn W*. Perspectives on AI-based recommendations for mask-wearing and COVID-19 vaccination for transplant recipients in the post-COVID-19 era. *Ren Fail*. 2024; 46 (1): 2337291. doi: 10.1080/0886022X.2024.2337291.
59. *Fu Q, Agarwal D, Deng K, Matheson R, Yang H, Wei L et al*. An unbiased machine learning exploration reveals gene sets predictive of allograft tolerance after kidney transplantation. *Front Immunol*. 2021; 12: 695806. doi: 10.3389/fimmu.2021.695806.
60. *Halloran PF, Reeve J, Madill-Thomsen KS, Demko Z, Prewett A, Billings P*. The Trifecta Study: comparing plasma levels of donor-derived cell-free DNA with the molecular phenotype of kidney transplant biopsies. *J Am Soc Nephrol*. 2022; 33 (2): 387–400. doi: 10.1681/ASN.2021091191.
61. *Li Y, Zhang J, Qiu X, Zhang Y, Wu J, Bi Q et al*. Diverse regulated cell death patterns and immune traits in kidney allograft with fibrosis: a prediction of renal allograft failure based on machine learning, single-nucleus RNA sequencing and molecular docking. *Ren Fail*. 2024; 46 (2): 2435487. doi: 10.1080/0886022X.2024.2435487.
62. *Buscher K, Heitplatz B, van Marck V, Song J, Loismann S, Rixen R et al*. Data-driven kidney transplant phenotyping as a histology-independent framework for biomarker discovery. *J Am Soc Nephrol*. 2021; 32 (8): 1933–1945. doi: 10.1681/ASN.2020121685.
63. *Yang S, Hou W, Liu L*. Progress in preservation of intestinal grafts by oxygenated hypothermic machine perfusion. *Transplant Rev*. 2024; 38 (1): 100802. doi: 10.1016/j.trre.2023.100802.
64. *Srivastava PK, Kittleson MM*. Modern advances in heart transplantation. *Prog Cardiovasc Dis*. 2024; 82: 147–156. doi: 10.1016/j.pcad.2024.01.012.
65. *Cheng H, Cui Z, Guo S, Zhang X, Huo Y, Mao S*. Mucoadhesive versus mucopenetrating nanoparticles for oral delivery of insulin. *Acta Biomater*. 2021; 135: 506–519. doi: 10.1016/j.actbio.2021.08.046.
66. *Alexander S, Moghadam MG, Rothenbroker M, Chou LYT*. Addressing the *in vivo* delivery of nucleic-acid nanostructure therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2023; 199: 114898. doi: 10.1016/j.addr.2023.114898.

67. *Coutance G, Chong AS, Habal MV*. Novel pretransplant desensitization strategies in heart transplantation. *JHLT Open*. 2025; 8: 100242. doi: 10.1016/j.jhlto.2025.100242.
68. *Marfil-Garza BA, Hefler J, Bermudez De Leon M, Pawlick R, Dadheech N, Shapiro AMJ*. Progress in Translational Regulatory T Cell Therapies for Type 1 Diabetes and Islet Transplantation. *Endocr Rev*. 2021; 42 (2): 198–218. doi: 10.1210/endrev/bnaa028.
69. *Tian Q, Wu C, Xu Y, Zhao Y*. Experimental research progress on immunology of organ transplantation in 2020. *Organ Transplant*. 2021; 12 (2): 143–154. doi: 10.3969/j.issn.1674-7445.2021.02.004.
70. *Cramer EEA, Ito K, Hofmann S. Ex vivo* Bone Models and Their Potential in Preclinical Evaluation. *Curr Osteoporos Rep*. 2021; 19 (1): 75–87. doi: 10.1007/s11914-020-00649-5.
71. *Ravi K, Manoharan TJM, Wang KC, Pockaj B, Nikkhah M*. Engineered 3D *ex vivo* models to recapitulate the complex stromal and immune interactions within the tumor microenvironment. *Biomaterials*. 2024; 305: 122428. doi: 10.1016/j.biomaterials.2023.122428.
72. *Guo W, Zhang X, Zhai J, Xue J*. The roles and applications of neural stem cells in spinal cord injury repair. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 966866. doi: 10.3389/fbioe.2022.966866.
73. *Faria I, Canizares S, Viana P, Kueht M*. II. Navigating the changing landscape of transplant research: Trends, topics, and gender disparities. *Am J Surg*. 2025; 239: 116003. doi: 10.1016/j.amjsurg.2024.116003.
74. *Carneiro CFD, Drude N, Hülsemann M, Collazo A, Toelch U*. Mapping strategies towards improved external validity in preclinical translational research. *Expert Opin Drug Discov*. 2023; 18 (11): 1273–1285. doi: 10.1080/17460441.2023.2251886.
75. *Zgoura P, Seibert FS, Waldecker C, Doevelaar A, Bauer F, Rohn B et al*. Psychological Responses to the Coronavirus Disease 2019 Pandemic in Renal Transplant Recipients. *Transplant Proc*. 2020; 52 (9): 2671–2675. doi: 10.1016/j.transproceed.2020.08.043.
76. *Martins PNA*. Kidney Transplantation in the rat: A modified technique using hydrodissection. *Microsurgery*. 2006; 26: 543–546.
77. *Ahmadi AR, Qi L, Iwasaki K, Wang W, Wesson RN, Cameron AM, Sun Z*. Orthotopic Rat Kidney Transplantantation: A Novel and Simplified Surgical Approach. *J Vis Exp*. 2019 May 7; (147): e59403. doi: 10.3791/59403.
78. *Gueler F, Shushakova N, Mengel M, Hueper K, Chen R, Liu X et al*. A Novel Therapy to Attenuate Acute Kidney Injury and Ischemic Allograft Damage after Allogenic Kidney Transplantantation in Mice. *PLoS One*. 2015; 10 (1): e0115709. doi: 10.1371/journal.pone.0115709.
79. *Mirioglu S, Morelle J, Efe O*. Thrombotic microangiopathy after kidney transplantation: diagnosis and management strategies. *Clin Kidney J*. 2026 Jan 24; 19 (3): sfag018. doi: 10.1093/ckj/sfag018.
80. *Zhao D, Liao T, Li S, Zhang Y, Zheng H, Zhou J et al*. Mouse Model Established by Early Renal Transplantantation After Skin Allograft Sensitization Mimics Clinical Antibody-Mediated Rejection. *Front Immunol*. 2018; 9: 1356. doi: 10.3389/fimmu.2018.01356.
81. *Al-Shalawi FD, Mohamed Ariff AH, Jung DW, Mohd Ariffin MKA, Seng Kim CL, Brabazon D, Al-Osaimi MO*. Biomaterials as implants in the orthopedic field for regenerative medicine: metal versus synthetic polymers. *Polymers (Basel)*. 2023; 15 (12): 2601. doi: 10.3390/polym15122601.
82. *Versteegden LRM, de Jonge PKJD, IntHout J, van Kuppevelt TH, Oosterwijk E, Feitz WFJ et al*. Tissue engineering of the urethra: a systematic review and meta-analysis of preclinical and clinical studies. *Eur Urol*. 2017; 72 (4): 594–606. doi: 10.1016/j.eururo.2017.03.026.
83. *Кабанова СА, Богопольский ПМ*. Пересадка почки: история, итоги и перспективы (к 50-летию первой успешной пересадки почки в России). *Трансплантология*. 2015; (2): 49–58. *Kabanova SA, Bogopol'skiy PM*. Kidney transplant: history, results and perspectives (The 50th anniversary of the first successful kidney transplant in Russia). *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2015; (2): 49–58. https://doi.org/10.23873/2074-0506-2015-0-2-104.
84. *Шабунин АВ, Дроздов ПА, Макеев ДА, Нестеренко ИВ, Журавель ОС, Астапович СА, Лиджиева ЭА*. Влияние элиминации вторичной тепловой ишемии на функцию почечного трансплантата: эксперимент и клиническое исследование. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2023; 25 (2): 26–37. *Shabunin AV, Drozdov PA, Makeev DA, Nesterenko IV, Zhuravel OS, Astapovich SA, Lidjieva EA*. Effect of second warm ischemia elimination on kidney graft function: an experiment and clinical study. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2023; 25 (2): 26–37. doi: 10.15825/1995-1191-2023-2-26-37.
85. *Гусев АА*. Какие нейросети и как может использовать врач-уролог в своей ежедневной работе: практические рекомендации. *Вестник урологии*. 2025; 13 (1): 99–109. *Gusev AA*. What neural networks and how a urologist can utilize in his routine tasks: practical tips. *Urology Herald*. 2025; 13 (1): 99–109. (In Russ.). doi: 10.21886/2308-6424-2025-13-1-99-109.
86. *Щамхалова КК, Меринов ДС, Артемов АВ, Гурбанов ШШ*. Искусственный интеллект и нейронные сети в урологии. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2023; 16 (2): 32–37. *Shamkhalova KK, Merinov DS, Artemov AV, Gurbanov ShSh*. Artificial intelligence and neural networks in urology. *Experimental and Clinical Urology*. 2023; 16 (2): 32–37. https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-2-32-37.
87. *Кобринский БА*. Системы искусственного интеллекта в хирургии: возможности, ограничения и перспективы. Обзор литературы. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии*. 2023; 13 (3): 385–404. *Kobrinskii BA*. Artificial intelligence systems in surgery: A review of opportunities, limitations, and prospects. Review. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care*. 2023; 13 (3): 385–404. https://doi.org/10.17816/psaic1547.

Статья поступила в редакцию 29.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 29.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-250-262

ДИНАМИКА СОСУДИСТОЙ КАЛЬЦИФИКАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ НА ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ ПОСЛЕ ПАРАТИРЕОИДЭКТОМИИ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Е.В. Паршина[1], А.Д. Толкач[1], Т.С. Придвижкина[1], К.Ю. Новокшонов[1], Р.А. Черников[1], А.Б. Зулькарнаев[2]

[1] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Клиника высоких медицинских технологий имени Н.И. Пирогова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

[2] ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

Цель: оценить динамику сосудистой кальцификации у диализ-зависимых пациентов в отдаленном периоде после выполнения паратиреоидэктомии (ПТЭ) по поводу вторичного гиперпаратиреоза (ВГПТ). **Материалы и методы.** В проспективное когортное исследование включено 63 взрослых пациента с хронической болезнью почек 5-й стадии, получающих заместительную почечную терапию. Пациентам основной группы (n = 55) была выполнена успешная ПТЭ по поводу вторичного гиперпаратиреоза. Восемь пациентов, получавших медикаментозное лечение ВГПТ, составили группу контроля. Компьютерная томография сердца с оценкой индекса коронарной кальцификации (ККА), а также боковая абдоминальная рентгенография с полуколичественной оценкой кальцификации брюшного отдела аорты (КБА) проводились на этапе включения в исследование и спустя 18 месяцев наблюдения. **Результаты.** В основной анализ были включены 44 пациента основной группы и 6 пациентов группы контроля, завершивших наблюдение. Среднее значение динамики ККА в группе ПТЭ +452, 95% ДИ [–223; 891], p = 0,101, в контроле +1432, 95% ДИ [–772; 2778], p = 0,065; различие в динамике –980, 95% ДИ [–2631; 1542], p = 0,434. Для КБА среднее значение динамики в группе ПТЭ составило 0 баллов, 95% ДИ [–1; 1], p = 0,775, в контроле +3 балла, 95% ДИ [–0,2; 5,8], p = 0,038; различие в динамике –2,9; 95% ДИ [–6,3; 0,54], p = 0,098. Уровень кальциемии и фосфатемии снизился после проведения ПТЭ на 0,13 (0,29) ммоль/л, p = 0,003, и на 0,25 (0,64) ммоль/л, p = 0,013, и не изменился на фоне консервативной терапии (размер эффекта 0,52 SD и 0,31 SD соответственно). *Достижение целевого диапазона ПТГ* для пациентов после ПТЭ (<15 пмоль/л) в сочетании с достижением целевых диапазонов кальциемии и фосфатемии с коррекцией на пол и возраст и терапию статинами (как маркер сердечно-сосудистой патологии) было связано *со снижением риска прогрессирования кальцификации* на 85% (–98%; –0,01%), p = 0,050 (R^2 = 0,400). **Выводы.** Различия в динамике сосудистой кальцификации по первичной конечной точке не достигли статистической значимости, возможно, из-за ограниченного размера группы контроля и гетерогенного эффекта. Значимое прогрессирование кальцификации брюшной аорты зафиксировано в контроле, но не в группе ПТЭ. Полученные оценки эффектов подлежат интерпретации только в контексте клинической значимости и могут быть использованы при проведении будущих исследований.

Ключевые слова: диализ, сосудистая кальцификация, вторичный гиперпаратиреоз, паратиреоидэктомия, паратиреоидный гормон.

Для корреспонденции: Паршина Екатерина Викторовна. Адрес: 198103, Санкт-Петербург, набережная реки Фонтанки, 154. Тел. (921) 657-73-72. E-mail: pannn@yandex.ru

Corresponding author: Ekaterina Parshina. Address: 154, Naberezhnaya Reki Fontanki, St. Petersburg, 198103, Russian Federation. Phone: (921) 657-73-72. E-mail: pannn@yandex.ru

VASCULAR CALCIFICATION PROGRESSION AFTER PARATHYROIDECTOMY IN PATIENTS ON RENAL REPLACEMENT THERAPY: A PILOT STUDY

E.V. Parshina[1], A.D. Tolkach[1], T.S. Pridvizhkina[1], K.Yu. Novokshonov[1], R.A. Chernikov[1], A.B. Zulkarnaev[2]

[1] St. Petersburg State University Hospital, St. Petersburg, Russian Federation
[2] Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Objective: to evaluate the progression of vascular calcification in dialysis-dependent patients following parathyroidectomy (PTX) for secondary hyperparathyroidism (SHPT) over long-term follow-up. **Materials and methods.** This prospective cohort study included 63 adult patients with stage 5 chronic kidney disease receiving renal replacement therapy. The main group (n = 55) underwent successful PTX for SHPT, while the control group (n = 8) received medical therapy. Cardiac computed tomography was performed to assess the coronary artery calcification (CAC) index, and lateral abdominal radiography was used for semi-quantitative assessment of abdominal aortic calcification (AAC). Assessments were conducted at baseline and after 18 months of follow-up. **Results.** The primary analysis included 44 patients in the PTX group and 6 in the control group who completed follow-up. The mean change in CAC was +452 (95% CI: –223 to 891; p = 0.101) in the PTX group and +1432 (95% CI: –772 to 2778; p = 0.065) in controls, with no significant between-group difference (Δ = –980; 95% CI: –2631 to 1542; p = 0.434). For AAC, the mean change was 0 points (95% CI: –1 to 1; p = 0.775) in the PTX group and +3 points (95% CI: –0.2 to 5.8; p = 0.038) in controls; the between-group difference approached significance (Δ = –2.9; 95% CI: –6.3 to 0.54; p = 0.098). Following PTX, serum calcium and phosphate levels decreased by 0.13 (0.29) mmol/L (p = 0.003) and 0.25 (0.64) mmol/L (p = 0.013), respectively, while remaining unchanged in the control group (effect sizes: 0.52 SD and 0.31 SD). Achieving target parathyroid hormone (PTH <15 pmol/L), along with normalized calcium and phosphate levels and statin therapy, was linked to an 85% reduction in the risk of calcification progression (95% CI: –98% to –0.01%; p = 0.050; R^2 = 0.400). **Conclusions.** Differences in vascular calcification progression did not reach statistical significance for the primary endpoint, likely due to the small control group and heterogeneity of effects. However, significant progression of AAC was observed in the control group but not in the PTX group. These findings suggest potential clinical relevance, although results should be interpreted only in the context of clinical significance and can be used in future studies.

Keywords: dialysis, vascular calcification, secondary hyperparathyroidism, parathyroidectomy, parathyroid hormone.

ВВЕДЕНИЕ

В современных аналитических статьях и обзорах большое внимание уделяется прямым и непрямым эффектам лекарственных препаратов, способных повлиять на темп прогрессирования сосудистой кальцификации при вторичном гиперпаратиреозе [1]. При этом работы, анализирующие эффекты паратиреоидэктомии (ПТЭ) в отношении прогрессирования сосудистой кальцификации, единичны и противоречивы как в отношении применявшихся методов оценки сосудистой кальцификации, так и в способе преобразования первичных данных, распределение которых резко отличается от нормального, что затрудняет сравнения [2].

Некоторые работы по оценке эффекта ПТЭ на прогрессирование сосудистой кальцификации относятся к периоду, когда терапия кальцимиметиками была малодоступна [3], а динамика отслежена только для субтотальной ПТЭ [4]. Публикуемые систематические обзоры с метаанализом, как правило, не включают в число анализируемых исходов параметры сосудистой кальцификации [5].

В проспективном исследовании мы оценили эффект ПТЭ (тотальной или субтотальной) на прогрессирование сосудистой кальцификации по кальцификации коронарных артерий и по кальцификации брюшной аорты в сравнении с консервативной терапией, включавшей кальцимиметики. Цель исследования – проверить гипотезу о том, что паратиреоидэктомия снижает прогрессирование сосудистой кальцификации у больных на ЗПТ, имеющих тяжелый вторичный гиперпаратиреоз, в сравнении со стандартной терапией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Проспективное когортное одноцентровое пилотное исследование было проведено в период с мая 2019 г. по январь 2024 г. в Клинике высоких медицинских технологий СПбГУ. В исследование были включены 63 взрослых пациента с ХБП С5, получа-

ющих заместительную почечную терапию методом гемодиализа или перитонеального диализа, и тяжелым вторичным гиперпаратиреозом.

Основную группу составили 55 пациентов, госпитализированных в плановом порядке в отделение эндокринной хирургии КВМТ СПбГУ для проведения паратиреоидэктомии по поводу ВГПТ. Показанием к оперативному лечению был рефрактерный к медикаментозной терапии ВГПТ с персистирующим уровнем ПТГ сыворотки >800 пг/мл в сочетании с гиперкальциемией и/или гиперфосфатемией, при наличии одной или более увеличенных (>10 мм) околощитовидных желез, визуализированных при помощи УЗИ и/или КТ. Критериями невключения пациентов в исследование были: известный диагноз первичного гиперпаратиреоза как причина утраты функции почек, нежелание пациента участвовать в исследовании и подписывать информированное согласие.

Всем пациентам основной группы была проведена субтотальная или тотальная паратиреоидэктомия с аутотрансплантацией ткани наименее измененной ОЩЖ в плечелучевую мышцу [6, 7]. Показания к направлению пациентов на оперативное лечение определялись врачом-нефрологом, в то время как объем оперативного вмешательства определялся эндокринным хирургом исходя из результатов дообследования пациента и интраоперационных находок. Все пациенты были прооперированы при участии одной и той же хирургической бригады. Критерием успешно выполненной операции считали снижение уровня ПТГ более чем на 50% в первый послеоперационный день. Для профилактики гипокальциемии после операции вводился кальцитриол (2,0 мкг/сут), кроме того, после операции, по мере необходимости, глюконат кальция внутривенно. Некоторые пациенты также получали добавки кальция перорально. Ведение пациентов после выписки из стационара, включая назначение препаратов кальция и витамина D, осуществлялось нефрологом диализного центра, в котором наблюдался пациент.

Контрольную группу составили восемь пациентов, получающих ЗПТ гемодиализом в отделении нефрологии и диализа КВМТ СПбГУ, которым было начато консервативное лечение тяжелого ВГПТ в период с сентября 2021 г. по май 2022 г. препаратами группы кальцимиметиков (цинакальцет, парсабив) – изолированно или в сочетании с препаратами активной формы витамина D (парикальцитол). Набор в контрольную группу с впервые назначенными кальцимиметиками был медленным, поскольку в городской системе лекарственного обеспечения пациентов с ХБП цинакальцет был в достаточной степени (для терапии в умеренных дозах) доступен с 2017 года, этелкальцетид – с 2019 года, и кальцимиметик-naïve-пациентов с уровнями ПТГ, приближающимися к таковым, при вероятной потребности в ПТЭ выявлялось немного. Фактически контрольную группу составили пациенты с вновь выявленным ВГПТ и переведенные из других центров. Показания к назначению антипаратиреоидной терапии определялись врачом-нефрологом. Коррекция дозировок кальцимиметиков, назначение фосфат-связывающих препаратов и аналогов витамина D проводились лечащими врачами-нефрологами, которые при принятии решений придерживались клинических рекомендаций KDIGO [8].

Методы

Всем пациентам, включенным в исследование, была выполнена компьютерная томография сердца с определением объемного индекса кальцификации коронарных артерий (ККА) по методу Агатстон [9], боковая абдоминальная рентгенография с полуколичественной оценкой кальцификации брюшной аорты (КБА) по Kauppila [10], определение лабораторных показателей (ПТГ, общий и ионизированный кальций, фосфор, щелочная фосфатаза сыворотки крови). Для пациентов основной группы лабораторное обследование проводилось в день накануне выполнения ПТЭ (для пациентов на гемодиализе – до проведения процедуры гемодиализа), рентгенологические исследования – в течение госпитализации.

Полученные значения интерпретировались следующим образом: счет кальцификации коронарных артерий (ККА) 0–10 AU – минимальная, 11–100 AU – легкая, 101–400 AU – умеренная, >400 AU – тяжелая степень кальцификации [11].

Определение выраженности сосудистой кальцификации брюшной аорты в проекции L1–L4 проводилось по боковой абдоминальной рентгенографии с визуальной оценкой кальцификации стенки брюшного отдела аорты по сегментам, соответствующим позвонкам. Отдельно оценивается передняя и задняя стенка, каждому сегменту присваивается оценка в баллах в соответствии со шкалой:

– 0 – нет отложений кальция в проекции брюшной аорты;
– 1 – незначительная кальцификация – менее $^1/_3$ протяженности сегмента;
– 2 – кальцификация $^1/_3$–$^2/_3$ протяженности сегмента;
– 3 – кальцификация более $^2/_3$ протяженности сегмента.

Полученные балльные оценки суммируются, диапазон возможных значений полуколичественного индекса кальцификации Kauppila: от 0 (нет кальцификации) до 24 (максимально выраженная кальцификация передней и задней стенки в четырех сегментах).

Оценка кальцификации количественным и полуколичественным способами проводилась двумя опытными специалистами лучевой диагностики независимо друг от друга, при этом оба они не имели

доступа к демографическим и лабораторно-инструментальным данным пациентов.

Первоначальный план исследования с оценкой изменений через 12 месяцев наблюдения был вынужденно скорректирован ввиду пандемии новой коронавирусной инфекции и невозможности проведения амбулаторных визитов в клинике. Период наблюдения был пролонгирован до 18 месяцев. Через 18 месяцев наблюдения пациенты приглашались на повторный визит, в рамках которого повторно проводились компьютерная томография сердца и боковая абдоминальная рентгенография, лабораторное обследование. Проводился сбор данных о нежелательных явлениях и о сопроводительной терапии МКН-ХБП в отдаленном периоде.

Первичной конечной точкой исследования являлось изменение индекса коронарной кальцификации через 18 месяцев наблюдения. Вторичной конечной точкой являлось изменение кальцификации аорты по методу Kauppila.

Этика

Исследование проводилось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Все участники подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол и поправка к протоколу исследования были одобрены локальным комитетом по биомедицинской этике Клиники СПбГУ (протокол № 3-4/2019 от 24.04.2019 г. и № 06/20 от 18.06.2020 г.). Исследование было зарегистрировано на www.clinicaltrials.gov до включения пациентов (NCT 03937349).

Статистический анализ

Расчет объема выборки не проводился, количество пациентов в группах определялось фактически доступным объемом клинического материала.

Для оценки количественных показателей и остатков на предмет соответствия нормальному распределению использовался критерий Шапиро–Уилка (модификация Ройстона). Величины с нормальным распределением описывались средним значением и стандартным отклонением M (SD). Переменные, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы и нижнего и верхнего квартилей Me [Q_1; Q_3], доверительные интервалы величин обозначены как 95% ДИ [5-й; 95-й перцентили]. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Связь параметров оценивалась по непараметрическим коэффициентам корреляции и в регрессионных моделях.

Статистический анализ проводили с использованием программы GraphPad Prism v.9.0.0 и SPSS-21. Оценивался двусторонний уровень значимости. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Тестируемые статистические гипотезы были сформулированы относительно средних значений, поскольку при небольшом количестве наблюдений медианы с большой вероятностью будут слабо чувствительны к изменениям значений у единичных пациентов. При этом такие наблюдения не могут быть исключены из анализа даже при экстремальных значениях, поскольку являются органичной частью данных.

Мы были ограничены в использовании методов статистического анализа. Несмотря на то что t-тест не имеет в своей основе предположения о соответствии выборочного распределения нормальному, в подобных нашим условиях результаты его плохо предсказуемы. В связи с этим мы отдали предпочтение непараметрическому подходу – бутстрепу. Это метод ресэмплинга с возвращением для оценки выборочного распределения статистики путем многократного генерирования псевдовыборок из исходных данных, без априорных предположений об эмпирическом распределении. Такой подход в отличие от тестов (Уилкоксона) Манна–Уитни позволил тестировать гипотезу (о равенстве центральных тенденций, в данном случае – выборочных средних), непосредственно представляющую интерес, и количественно описать эффект.

Динамику количественных показателей описывали в виде среднего индивидуальных разностей (индивидуальных динамик) с 95% ДИ. После этого сравнивали средние динамики в группах, результат представляли как разность средних с 95% ДИ. В указанных случаях ДИ (Bias-Corrected and Accelerated) и достигнутый уровень значимости оценивали при помощи процедуры бутстрепа. Анализ проведен в SPSS-21 и R 4.5.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 63 подписавших информированное согласие участников исследования 44 пациента основной группы и 6 пациентов группы контроля завершили наблюдение. Таким образом, выбытие в основной группе составило 20%, в контрольной – 25%. Блок-схема исследования с указанием причин выбытия представлена на рис. 1.

Табл. 1 отражает основные демографические, лабораторные и инструментальные характеристики пациентов на момент включения в исследование; представлены абсолютные частоты (%), медианы [Q1; Q3], среднее (SD).

Медианы доз антигиперпаратиреоидных препаратов в группе ПТЭ до операции составили: цинакальцет 60 [60; 90] мг, этелкальцетид 15 [15; 23,5] мг и парикальцитол 15 [15; 15] мкг. Среди прооперированных тотальная ПТЭ с аутотрансплантацией была выполнена 24 пациентам, субтотальная ПТЭ – 31 пациенту.

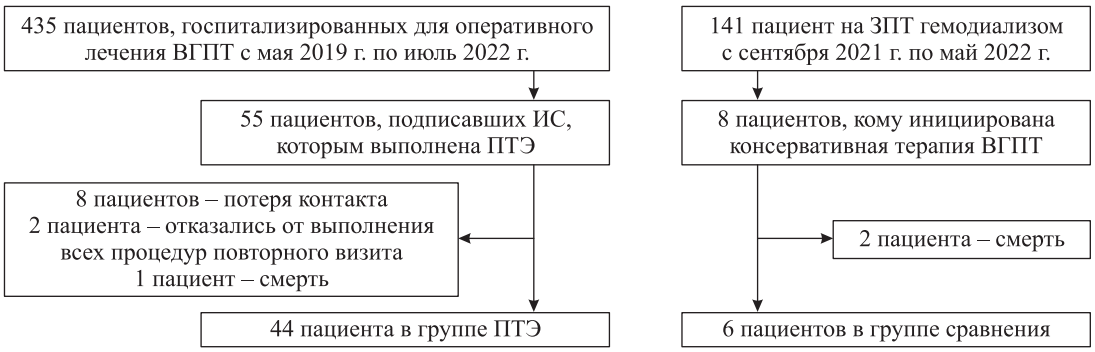


Рис. 1. Блок-схема исследования. ВГПТ – вторичный гиперпаратиреоз; ПТЭ – паратиреоидэктомия; ЗПТ – заместительная почечная терапия

Fig. 1. Study flowchart. ВГПТ – secondary hyperparathyroidism; ПТЭ – parathyroidectomy; ЗПТ – renal replacement therapy

Таблица 1

Основные исходные характеристики групп пациентов: после паратиреоидэктомии (ПТЭ) и контрольной

Baseline characteristics of patients in the parathyroidectomy (PTX) and control groups

Показатель	Группа ПТЭ (n = 55)	Группа контроля (n = 8)	p
Возраст, лет	49 (13)	57 (20)	0,132
Женский пол, n (%)	31 (56)	1 (12,5)	0,027
Индекс массы тела, кг/м^2	25,3 (4,4)	22,7 (2,2)	0,099
Причина ХБП, %			
Хронический гломерулонефрит	24	2	
Поликистоз почек	12	2	
Интерстициальные нефриты	7	2	p = 0,651
Диабетическая нефропатия	3	1	
Сосудистые нефропатии	6	0	
Аномалии развития почек	3	1	
Диализный стаж, месяцы	51 [31; 110]	16 [4; 27]	<0,001
Трансплантация в анамнезе, n (%)	10 (18)	0 (0)	0,335
Курение			
Не курит	38 (69)	5 (63)	0,652
Ранее курил	3 (5)	0 (0)	
Курит	14 (25)	3 (37)	
Коморбидность, баллы по CIRS-G	13 [11; 15]	14 [9; 17]	0,835
Сердечно-сосудистая патология в анамнезе, n (%)	11 (20)	3 (38)	0,256
Сахарный диабет, n (%)	5 (10)	1 (12,5)	0,829
Патологические переломы, n (%)	6 (11)	0 (0)	0,326
Разрывы сухожилий, n (%)	2 (4)	0 (0)	0,584
Прием препаратов, n (%)			
Витамин D	20 (37)	0 (0)	0,036
Парикальцитол	20 (37)	0 (0)	0,039
Кальцимиметики	30 (55)	0 (0)	0,004
Са-ФСП	18 (33)	0 (0)	0,052
не-Са-ФСП	31 (57)	6 (75)	0,344
Статины	12 (25)	6 (75)	0,004
Кальций общий, ммоль/л	2,40 (0,22)	2,07 (0,17)	<0,001
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,16 (0,11)	1,08 (0,11)	0,046
Фосфаты, ммоль/л	1,93 (0,51)	1,92 (0,51)	0,989
Паратгормон, пмоль/л	131 [92; 184]	57 [45; 67]	0,011
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	132 [86; 218]	79 [65; 101]	0,062

Примечание. Са-ФСП – кальцийсодержащие фосфат-связывающие препараты.

Note. Са-ФСП – calcium-containing phosphate binders.

Пациенты, получавшие консервативную терапию ВГПТ, имели существенно меньший стаж диализа; доля женщин была ниже, у них был ниже уровень общего и ионизированного кальция, а также паратгормона; других значимых различий между группами не было. Важно отметить, что практически все прооперированные пациенты получали ранее антипаратиреоидную терапию, а также другие препараты для коррекции МКН-ХБП.

Медианы [Q1; Q3] индексов ККА во всей исследуемой группе составили на старте исследования и через 18 мес. 435 [14; 2127] и 474 [26; 2341] соответственно, динамика +14 [–4,5; +284], p = 0,036 (рис. 2).

Кальцификация брюшной аорты (медиана [Q1; Q3]) составила 1 [0; 6] балл исходно и 2 [0–8,5] балла в конце исследования, динамика за 18 мес. – 0 [–1; +1] баллов – не отличалась от 0 (p = 0,521); рис. 3.

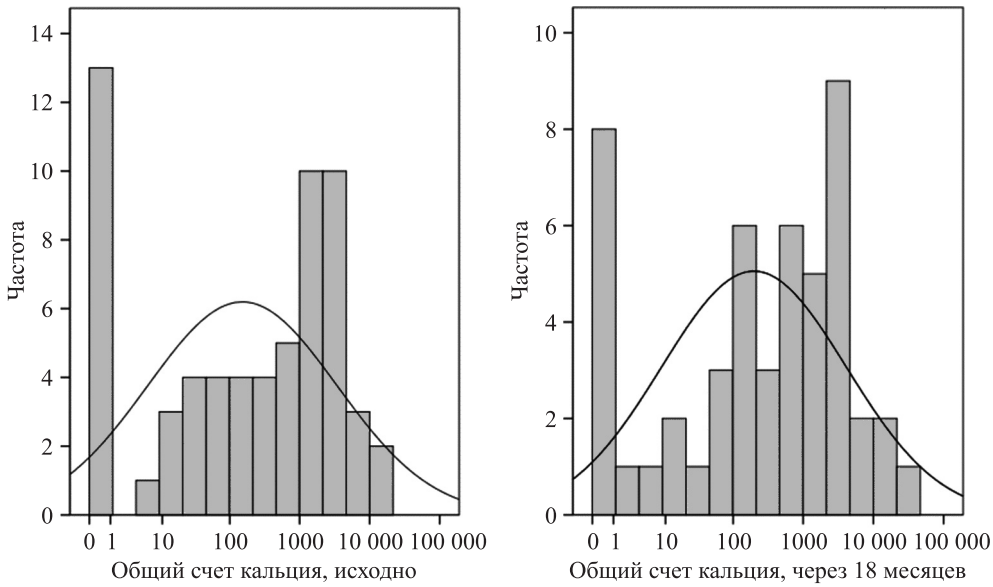


Рис. 2. Счет кальцификации коронарных артерий по объемному методу Агатстона в объединенной группе исходно (n = 63) и через 18 месяцев (n = 50)

Fig. 2. Coronary artery calcification score assessed using the Agatston volumetric method in the combined cohort at baseline (n = 63) and at 18 months (n = 50)

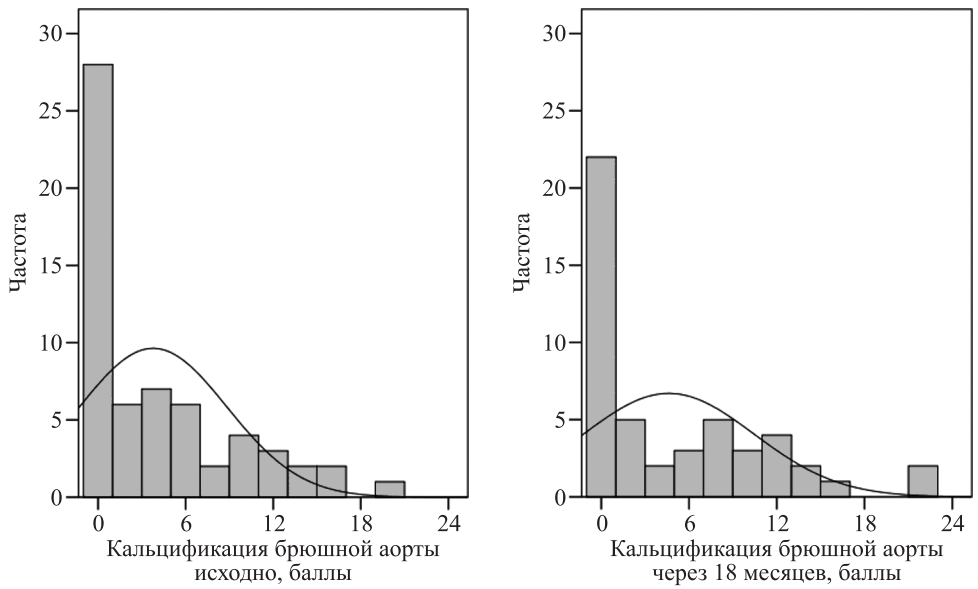


Рис. 3. Оценка кальцификации брюшной аорты по методу Kauppila в объединенной группе исходно (n = 63) и через 18 месяцев (n = 50)

Fig. 3. Assessment of abdominal aortic calcification using the Kauppila method in the combined cohort at baseline (n = 63) and at 18 months (n = 50)

Сравнительная динамика показателей кальцификации в группах ПТЭ и консервативной коррекции вторичного гиперпаратиреоза представлена в табл. 2.

Дополнительно в табл. 3 представлена динамика индекса кальцификации коронарных артерий и брюшной аорты при разделении группы ПТЭ по объ-

Таблица 2

Динамика кальцификации в группах паратиреоидэктомии и консервативной терапии

Changes in calcification in the parathyroidectomy and conservative therapy groups

Показатели кальцификации	Контроль (n = 6)				Паратиреоидэктомия (n = 44)				Различие динамики	
	Медиана [Q1; Q3]		Динамика М [95% ДИ]	p	Медиана [Q1; Q3]		Динамика М [95% ДИ]	p	М [95% ДИ]	p
	до	после			до	после				
Левая главная артерия	8,5 [0; 72,5]	39,0 [0; 90]	21,1 [–44,5; 78,7]	0,517	0 [0; 65]	0 [0; 29]	–60,5 [–112,3; 17,6]	0,063	–86,5 [–169,7; 20,3]	0,070
Левая передняя нисходящая	72 [22; 269]	59 [14; 390]	–136 [–92; 263]	0,064	72 [0; 509]	92 [12; 504]	–50 [–68; 192]	0,445	86,4 [–290,7; 191,9]	0,557
Левая огибающая артерия	0 [0; 225]	26,5 [0; 641]	76 [–13; 142]	0,061	1 [0; 191]	11 [0; 107]	175 [–128; 361]	0,179	99 [–208; 320]	0,520
Правая коронарная артерия	4 [0; 652]	0 [0; 1345]	–745 [–1487; 666]	0,083	5 [0; 166]	2,5 [0; 205]	–11 [–123; 98]	0,163	734 [–651; 1239]	0,746
Митральный клапан	0 [0; 361]	17,5 [0; 2315]	745 [–666; 1487]	0,083	0 [0; 197]	0 [0; 45,25]	226 [–379; 592]	0,504	520 [–1686; 1166]	0,527
Аортальный клапан	0 [0; 0]	0 [0; 401]	210 [–77; 421]	0,159	0 [0; 45]	0 [0; 41]	22 [–68; 81]	0,604	–189 [–436; 144]	0,202
Общий счет кальцификации	181 [33; 2655]	1173 [14; 4811]	1432 [–772; 2778]	0,065	458 [14; 2127]	474 [43; 1956]	452 [–223; 891]	0,101	–980 [–2631; 1542]	0,434
Кальцификация брюшной аорты	3 [0; 8]	9 [8; 10]	3 [–0,2; 5,8]	0,038	1 [0; 6]	1 [0; 8]	0 [–1; 1]	0,775	–2,9 [–6,3; 0,54]	0,098

Таблица 3

Динамика кальцификации по группам субтотальной и тотальной паратиреоидэктомии в сравнении с консервативной терапией

Dynamics of calcification in the subtotal and total parathyroidectomy groups compared with conservative therapy

Группа	n	Исходно	Через 18 месяцев	Динамика		Различие динамики с контролем	
		Медиана [Q1; Q3]		М [95% ДИ]	p	М [95% ДИ]	p
Общий счет кальцификации коронарных артерий							
Консервативно	6	181 [33; 2655]	1173 [14; 4811]	1432 [–772; 2778]	0,065	–980 [–2631; 1542]	0,434
ПТЭ	44	458 [14; 2127]	474 [43; 1956]	452 [–223; 891]	0,101		
S-ПТЭ	27	86 [0; 1257]	149 [3; 1120]	108 [–82; 355]	0,469	–1321 [–3909; 158]	0,395
T-ПТЭ	17	1100 [73; 3044]	508 [217; 2902]	–988 [–3341; 2474]	0,192	–433 [–3809; 2180]	0,784
Кальцификация брюшной аорты							
Консервативно	6	3 [0; 8]	9 [6; 11]	3 [–0,2; 5,8]	0,038	–2,9 [–6,3; 0,54]	0,098
ПТЭ	44	458 [14; 2127]	474 [36,5; 2127]	0 [–1; 1]	0,775		
S-ПТЭ	27	0 [0; 2,25]	0 [2; 2,25]	0,42 [–0,53; 1,48]	0,314	–2,56 [–4,21; 0,163]	0,064
T-ПТЭ	17	5 [0; 10,75]	5 [0; 12]	–0,32 [–1,22; 1,67]	0,764	–3,18 [–7,14; 0,72]	0,109

Примечание. ПТЭ – паратиреоидэктомия; S-ПТЭ – субтотальная ПТЭ; T-ПТЭ – тотальная ПТЭ.

Note. ПТЭ – parathyroidectomy; S-ПТЭ – subtotal PTX; T-ПТЭ – total PTX.

ему вмешательства в сравнении с консервативной терапией. Отличия динамики кальцификации от таковой в контрольной группе раздельно для подгрупп субтотальной и тотальной ПТЭ с аутотрансплантацией не достигали статистической значимости.

У большинства пациентов, получавших консервативную терапию, к концу периода наблюдения мы отметили увеличение выраженности кальцификации коронарных артерий (рис. 4) и брюшного отдела аорты (рис. 5), что закономерно отразилось на динамике.

У большей доли пациентов после ПТЭ мы отметили небольшое уменьшение уровня кальцификации коронарных артерий. Тем не менее за счет того что у единичных пациентов отмечено выраженное увеличение ККА, среднее значение динамики находилось в области положительных значений, но она была менее выраженной, чем у пациентов на консервативной терапии. Таким образом, увеличение коронарной кальцификации более выражено у пациентов, получавших консервативную терапию.

Как видно по рис. 5, динамика уровня кальцификации брюшной аорты была разнонаправленной, среднее величин индивидуальной динамики было близко к нулю. На фоне того, что у пациентов, получавших консервативную терапию, преимущественно отмечен рост кальцификации брюшной аорты, у пациентов, получивших ПТЭ, рост кальцификации брюшной аорты был выражен меньше.

Отметим, что оценки лежали в области $p > 0,05$, поэтому мы не выносим суждения о статистической значимости, а лишь описываем наблюдаемый эффект.

За время наблюдения из 37 пациентов группы ПТЭ, не имевших сердечно-сосудистой патологии, у троих она зафиксирована *de novo* (8%), что реже, чем в контроле: в группе консервативной терапии из 4 пациентов без сердечно-сосудистой патологии вновь выявлена она у двоих (50%), $p = 0,015$. Патологические переломы за 18 месяцев зафиксированы у трех пациентов, ранее их не переносивших (7,5%); отличие этой частоты от нулевой частоты в контроле не достигло статистической значимости ($p = 0,470$).

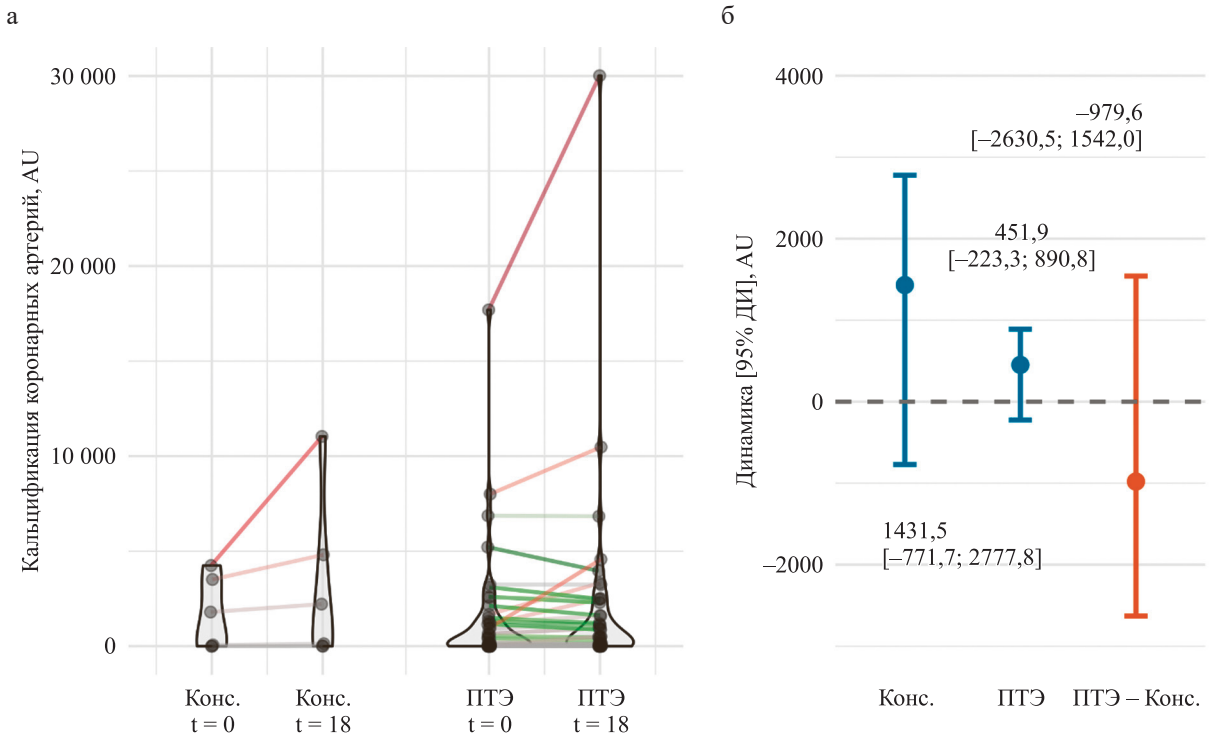


Рис. 4. Динамика кальцификации коронарных артерий за период наблюдения в 18 месяцев: а – индивидуальная динамика кальцификации коронарных артерий, цветовой градиент описывает величину индивидуальной динамики (снижение – оттенки зеленого, близкие к нулю – серый, увеличение – оттенки красного), форма фигур отражает выборочное распределение; б – представлены средние значения индивидуальной динамики по группам (синий) и разность средних величин индивидуальной динамики (среднее в группе ПТЭ минус среднее в группе консервативной терапии, оранжевый), 95% ДИ для разницы средних вычислены бутстрепом

Fig. 4. Progression of coronary artery calcification during the 18-month follow-up period: a – individual dynamics of coronary artery calcification, the color gradient represents the magnitude of individual changes (decrease – shades of green; near zero – gray; increase – shades of red), the shape of the figures reflects the sample distribution; б – mean individual dynamics by group (blue) and the difference in mean values between groups (mean in the parathyroidectomy [PTX] group minus mean in the conservative (Cons) therapy group, orange), the 95% confidence interval (CI) for the difference in means was estimated using bootstrapping

То же относится к разрывам сухожилий: новых случаев в обеих группах не произошло.

В контрольной группе к окончанию исследования четверо получали цинакальцет (медиана дозы 60 [60; 90] мг/сут) и двое – парикальцитол (медиана дозы 15 [15; 15] мкг/нед.). В группе ПТЭ из 27 пациентов, до операции получавших цинакальцет (медиана дозы 60 [60; 90] мг/сут), и 17 пациентов, получавших парикальцитол (медиана дозы 15 [15; 15] мкг/нед.), к окончанию исследования только по двое пациентов получали цинакальцет (60 мг/сут) и парикальцитол (15 мкг/нед.). Кальцийсодержащие фосфат-связывающие препараты (Са-ФСП) вновь назначены у одного из шести пациентов в контроле (17%) и у 9 из 27, ранее их не получавших, в группе ПТЭ (33%), p = 0,422, а у 5 из 15 ранее получавших – отменены. Таким образом, динамика использования Са-ФСП не различалась. Бескальциевые ФСП применялись в обеих группах чаще кальцийсодержащих: у 5/6 (83%) в контроле и у 25/42 (62%) в группе ПТЭ, не различаясь по частоте между собой (p = 0,260). В целом не было выявлено связи изменения в терапии с динамикой кальцификации.

Динамика параметров МКН-ХБП представлена в табл. 4.

Уровень кальциемии и фосфатемии снизились после проведения ПТЭ на 0,13 (0,29) ммоль/л, p = 0,003, и на 0,25 (0,64) ммоль/л, p = 0,013, и не изменились на фоне консервативной терапии (размер эффекта 0,52 SD и 0,31 SD соответственно). Медианы паратгормона и щелочной фосфатазы после ПТЭ также снизились в большей мере, чем на фоне консервативной терапии.

Связи динамики сосудистой кальцификации с параметрами минеральных и костных нарушений при ХБП в попарных сравнениях не достигли статистической значимости, возможно, из-за ограниченного числа наблюдений, но *достижение целевого диапазона ПТГ* для пациентов после ПТЭ (<15 пмоль/мл – произвольно установлен для целей данного анализа) в сочетании с достижением целевых диапазонов кальциемии и фосфатемии с коррекцией

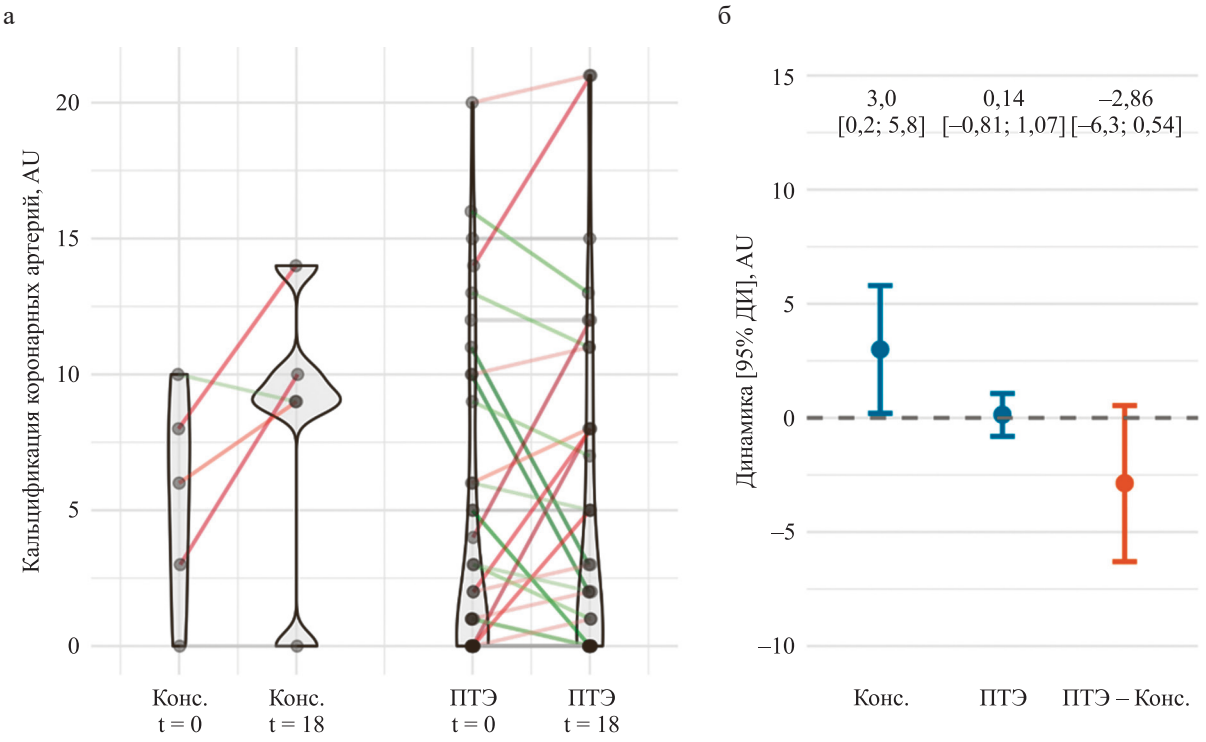


Рис. 5. Динамика кальцификации брюшной аорты за период наблюдения в 18 месяцев: а – индивидуальная динамика кальцификации брюшной аорты, цветовой градиент описывает величину индивидуальной динамики (снижение – оттенки зеленого, близкие к нулю – серый, увеличение – оттенки красного), форма фигур отражает выборочное распределение; б – представлены средние значения индивидуальной динамики по группам (синий) и разность средних величин индивидуальной динамики (среднее в группе ПТЭ минус среднее в группе консервативная терапия, оранжевый), 95% ДИ для разницы средних вычислены бутстрепом

Fig. 5. Progression of abdominal aortic calcification during the 18-month follow-up period: a – individual dynamics of abdominal aortic calcification, the color gradient represents the magnitude of individual changes (decrease – shades of green; near zero – gray; increase – shades of red), the shape of the figures reflects the sample distribution; б – mean individual dynamics by group (blue) and the difference in mean values between groups (mean in the parathyroidectomy [PTX] group minus mean in the conservative (Cons) therapy group, orange), the 95% confidence interval (CI) for the difference in means was estimated using bootstrapping

Таблица 4

Динамика параметров минеральных и костных нарушений при хронической болезни почек за время наблюдения

Dynamics of mineral and bone disorder parameters in chronic kidney disease during follow-up

Параметр	Паратиреоидэктомия			Консервативно			Различие в динамике, p
	Исходно	18 мес.	Динамика, M [95% ДИ], p	Исходно	18 мес.	Динамика, M [95% ДИ], p	
	Медиана [Q1; Q3]			Медиана [Q1; Q3]			
Кальций общий, ммоль/л	2,40 (0,22)	2,28 (0,32)	–0,14 [–0,23; 0,05] p = 0,001	2,16 (0,07)	2,18 (0,22)	+0,02 [–0,19; +0,15] p = 0,804	0,16 [–0,07; 0,36] p = 0,129
Фосфаты, ммоль/л	1,93 (0,51)	1,69 (0,57)	–0,25 [–0,43; –0,05] p = 0,008	2,09 (0,48)	2,03 (0,68)	–0,06 [–0,42; +0,47] p = 0,791	0,19 [–0,32; 0,75] p = 0,487
Паратгормон, пмоль/л	132 [92–184]	8 [2–19]	–132 [–165; –112] p < 0,001	57 [49–65]	49 [27–82]	8 [–15; +25] p = 0,45	125 [96; 124] p < 0,001
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	132 [86–218]	56 [45–68]	–58 [–140; –28] p < 0,001	79 [65–101]	74 [55–81]	–11 [–6; –18] p = 0,001	72 [51; 93] p < 0,001

Примечание. Для уровней кальция и фосфатов представлены средние значения и 95% доверительные интервалы, для паратгормона и щелочной фосфатазы – медианы и границы квартилей; динамика показателей и ее различие между группами представлены средним значением и 95% доверительными интервалами.

Note. Calcium and phosphate levels are presented as mean values with 95% confidence intervals (95% CI). Parathyroid hormone and alkaline phosphatase are presented as medians with quartile ranges. Changes in parameters and between-group differences are expressed as mean values with 95% CI.

на пол и возраст и терапию статинами (как маркер сердечно-сосудистой патологии) было связано *со снижением риска прогрессирования кальцификации* на 85% (–98%; –0,01%), p = 0,050 (R^2 Нэйджелкерка для модели – 0,400).

У 44 пациентов после ПТЭ и 6 пациентов на консервативной терапии параллельно оценена динамика кальцификации коронарных артерий и брюшной аорты. Счет кальцификации коронарных артерий и балльная оценка кальцификации брюшной аорты имели умеренную связь между собой (рис. 6), лучше КБА была связана с величиной квадратного корня из ККА (такое преобразование приближает распределение величин ККА к нормальному).

Из 87 исследований (в том числе и повторных) с выявленной кальцификацией коронарных артерий (выше 10 AU) в 29 случаях (33%) кальцификация брюшной аорты не выявлялась (0 баллов); напротив, из 60 случав, где выявлена кальцификация брюшной аорты, только в 2 случаях (3%) счет кальцификации коронарных артерий не превышал 10 AU.

В рамках анализа чувствительности из групп исключены пациенты с рецидивом гиперпаратиреоза (паратгормон через 18 месяцев выше 9-кратной верхней границы нормы, n = 40). Как и в полных исследуемых группах, общий счет кальцификации коронарных артерий через 18 месяцев после ПТЭ не изменился значимо (среднее значение динамики +473; [95% ДИ –9; +1155], p = 0,281). При учете только пациентов с уровнем ПТГ через 18 месяцев менее 300 пг/мл (31,6 пмоль/л), n = 38, динамика ККА не отличалась от 0 в группе ПТЭ (+474 [–159; 1107], p = 0,380), а у двух пациентов в контрольной группе составила 65 и 3429 баллов.

Выраженной динамики кальцификации брюшной аорты в подгруппах не отмечено.

Связь между ККА и КБА в подгруппе без пациентов с рецидивами ВГПТ сохранилась на прежнем уровне (r = 0,637; 95% ДИ 0,433; 0,779 и r = 0,570; 95% ДИ 0,344; 0,734 для исходных значений и для значений через 18 месяцев, n = 46 и n = 44 соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе динамики мы отошли от часто встречающейся (и не одобряемой профессиональными статистиками) практики изолированного приведения описательных статистик с дополнением величины p и сосредоточились на описании эффекта [12]. Тот факт, что по конечным точкам не был достигнут порог p < 0,05, говорит о том, что необходимы дальнейшие исследования и представленные нами результаты могут служить отправной точкой при их планировании. Также отметим, что уровни p > 0,05 не могут быть интерпретированы как «различий нет» [13]. Величина p является мерой согласованности наблюдаемых

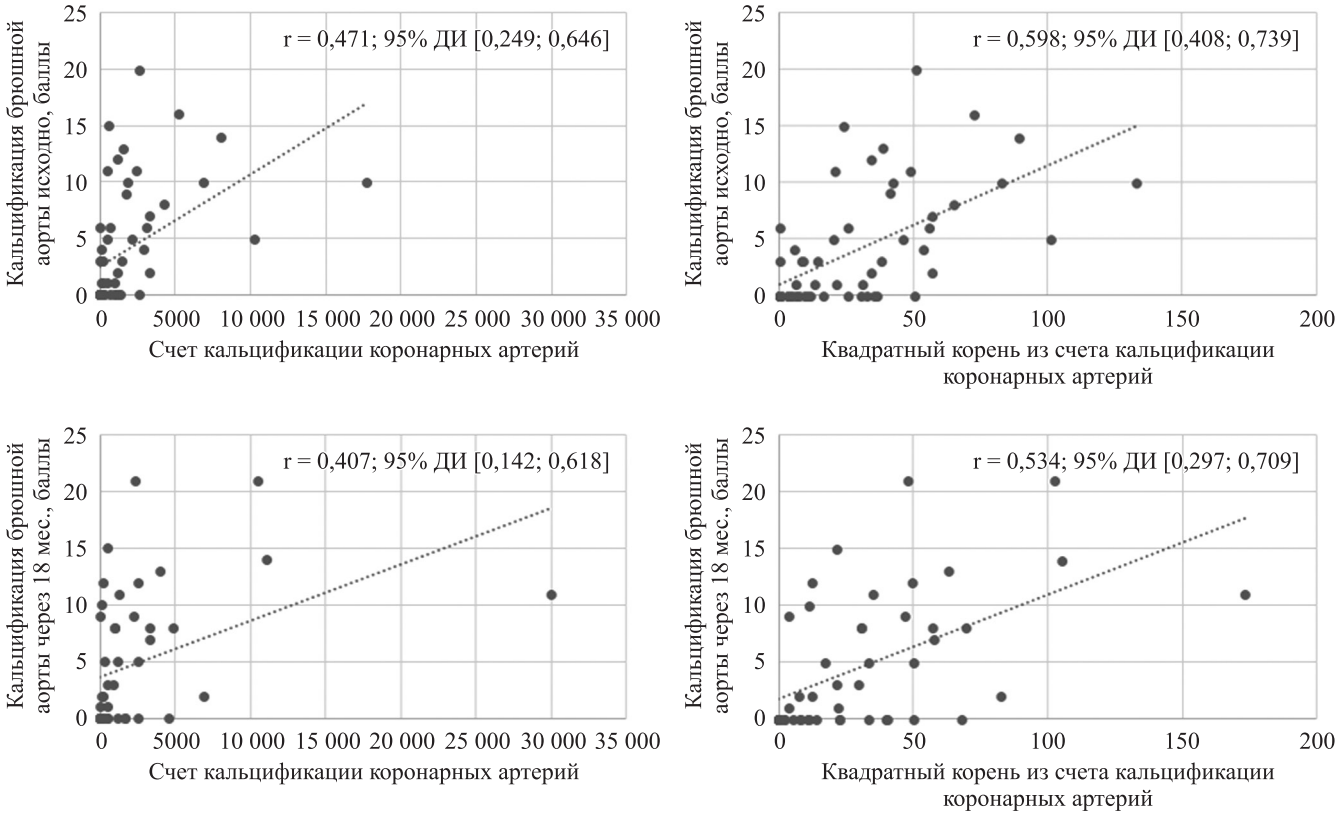


Рис. 6. Связь между сосудистой кальцификацией, оцененной по кальцификации коронарных артерий и кальцификации брюшной аорты. Представлены коэффициенты корреляции Спирмена между результатами оценки кальцификации коронарных артерий и кальцификации брюшной аорты

Fig. 6. Relationship between vascular calcification assessed by coronary artery calcification and abdominal aortic calcification. Spearman's correlation coefficients between coronary artery calcification and abdominal aortic calcification scores are presented

данных со статистической моделью, где верна нулевая гипотеза, а также все остальные предположения. В нашем случае мы не можем уверенно отклонить нулевую гипотезу.

В исследовании «случай–контроль» в сопоставленных группах по 120 пациентов, проведенном в 2012–2020 гг., прогрессирование кальцификации оценивали по изменению счета кальцификации дуги аорты (КДА) на переднезадних рентгеновских снимках грудной клетки. Средний период наблюдения составил 38 месяцев. При исходно не различающейся КДА в группах (59% *vs* 54%) после ПТЭ прогрессирование наблюдалось у 33% пациентов в группе РТХ и у 47% в группе без РТХ ($p = 0,04$). В многомерной обобщенной линейной модели ПТЭ была независимым фактором защиты, а гиперкальциемия способствовала прогрессированию КДА. Линейные смешанные модели показали рост КДА в обеих группах, но сравнение между группами указывало на значительно более медленное прогрессирование в группе РТХ. Более быстрое прогрессирование КДА коррелировало с худшей выживаемостью [14]. Ограничением исследования является тот факт, что оценка кальцификации дуги аорты не является валидированным методом оценки сосудистой кальцификации у пациентов на ЗПТ.

Динамика кальцификации коронарных артерий (ККА) сопоставлена у 48 пациентов после ПТЭ в сравнении с проспективным двухлетним наблюдением за 56 пациентами с тяжелым вторичным гиперпаратиреозом без ПТЭ. Количественное определение ККА проводилось по методу Агатстона. У пациентов, перенесших ПТЭ, средний квадратный корень из ККА не продемонстрировал динамики (от 23,2 ± 18,6 до 23,7 ± 18,2; $p = 0,072$), тогда как отрицательная динамика у пациентов без ПТЭ была значимой (от 20,2 ± 16,5 до 28,7 ± 21,0; $p < 0,001$). Кроме того, медиана годовой прогрессии САС была ниже у пациентов после ПТЭ (5%) чем у пациентов без ПТЭ (53%; $p < 0,001$) [15].

В РКИ по сравнению результатов ПТЭ и терапии кальцимиметиками (PROCEED [16]) изменения индекса массы миокарда левого желудочка, ККА и клапанов, скорости пульсовой волны в аорте и HRQOL не отличались между группами или в динамике внутри групп, несмотря на значительное снижение уровня кальция, фосфора и паратиреоидного гормона в плазме крови в обеих группах.

Возможно, эффект ПТЭ (как и консервативной терапии) в отношении динамики сосудистой кальцификации не является однородным, а связан с достижением не установленных к настоящему времени целевых показателей [17]. В нашем ограниченном по объему материала анализе достижение целевого диапазона ПТГ для пациентов после ПТЭ (<15 пмоль/мл) в сочетании с достижением целевых диапазонов кальциемии и фосфатемии с коррекцией на пол и возраст и терапию статинами (как маркер сердечно-сосудистой патологии) было связано со снижением риска прогрессирования кальцификации.

В единственной, по-видимому, к настоящему моменту работе F.R. Hernandes et al. [18] анализировали связь сдвига костного обмена по результатам биопсии кости и динамики сосудистой кальцификации через год после ПТЭ. Показано, что сосудистая кальцификация в существенно большей степени нарастала в группе пациентов с очень низким обменом в костной ткани по сравнению с группой с нормальным/сниженным уровнем обмена. Вероятно, это может отчасти объяснить разнонаправленную динамику и у наших пациентов из группы ПТЭ. Стоит отметить, что в нашем исследовании уровень ЩФ снизился в группе ПТЭ по сравнению с группой консервативной терапии, однако при этом нарастание уровня кальцификации отмечено у единичных пациентов – вероятно, у большей части больных уровень костного обмена после ПТЭ снизился, но не достиг состояния очень низкого. Безусловно, такая трактовка имеет определенные ограничения, так как ЩФ косвенно отражает состояние костного обмена.

Ограничения исследования

Ограничением является небольшой объем выборки с гетерогенным эффектом и отсутствием возможности проведения субгруппового и многофакторного анализа. Для ПКТ уровень значимости $p < 0,05$ не достигнут. Полученные оценки эффектов подлежат интерпретации только в контексте клинической значимости, а также при проведении будущих исследований [19]. Также мы не имели возможности прямой оценки состояния обмена в костной ткани с помощью выполнения биопсии кости.

ВЫВОДЫ

У большинства пациентов с ХБП С5Д в отдаленном периоде после ПТЭ наблюдается некоторое уменьшение выраженности кальцификации коронарных артерий в отличие от пациентов, получающих консервативную терапию ВГПТ, в которой мы отметили нарастание индекса коронарной кальцификации. Различия в динамике сосудистой кальцификации по первичной конечной точке не достигли статистической значимости, возможно, из-за ограниченного размера группы контроля и гетерогенного эффекта. Значимое прогрессирование кальцификации брюшной аорты зафиксировано в контроле, но не в группе ПТЭ. Полученные оценки эффектов подлежат интерпретации только в контексте клинической значимости и могут быть использованы при проведении будущих исследований.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Chandu A, Arana C, Díaz-García JD, Cozzolino M, Ciceri P, Torregrosa JV*. Calcimimetics and Vascular Calcification. *Toxins (Basel)*. 2025 Jun 12; 17 (6): 297. doi: 10.3390/toxins17060297.
2. *Radford NB, DeFina LF, Barlow CE, Lakoski SG, Leonard D, Paixao AR et al.* Progression of CAC Score and Risk of Incident CVD. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2016 Dec; 9 (12): 1420–1429. doi: 10.1016/j.jcmg.2016.03.010.
3. *Daniel WT, Weber C, Bailey JA, Raggi P, Sharma J*. Prospective analysis of coronary calcium in patients on dialysis undergoing a near-total parathyroidectomy. *Surgery*. 2013; 154 (6): 1315–1321. doi: 10.1016/j.surg.2013.06.030.
4. *Gao Z, Li X, Miao J, Lun L*. Impacts of parathyroidectomy on calcium and phosphorus metabolism disorder, arterial calcification and arterial stiffness in haemodialysis patients. *Asian J Surg*. 2019; 42 (1): 6–10. doi: 10.1016/j.asjsur.2018.04.001.
5. *Song Z, Wu C, Wang R, Gillis A, Fazendin J, Lindeman B, Chen H*. The Effects of Parathyroidectomy vs Medical Treatments for Secondary Hyperparathyroidism in Patients Undergoing Dialysis: A Meta-Analysis. *Endocr Pract*. 2024; 30 (6): 569–576. doi: 10.1016/j.eprac.2024.04.002.
6. *Новокшонов КЮ, Федотов ЮН, Карелина ЮВ, Придвижкина ТС, Черников РА, Слепцов ИВ и др*. Хирургическая анатомия околощитовидных желез у больных, оперированных по поводу вторичного гиперпаратиреоза. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2015; 7 (3): 23–28. *Novokshonov KYu, Fedotov YuN, Karelina YuV, Pridvizhkina TS, Chernikov RA, Sleptsov VI et al*. Surgical anatomy of parathyroid glands in patients with secondary hyperparathyroidism. *Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2015; 7 (3): 23–28.
7. *Долидзе ДД, Шабунин АВ, Шутов ЕВ, Захарова ЕВ, Слепухова ДВ, Кованцев СД, Большаков СА*. Вторичный гиперпаратиреоз. Специфика, сложности, особенности лечения. Обзор литературы. Часть II – Хирургическое лечение. *Нефрология и диализ*. 2024; 26 (1): 23–34. *Dolidze DD, Shabunin AV, Shutov EV, Zakharova EV, Slepukhova DV, Covantsev SD, Bolshakov SA*. Secondary hyperparathyroidism. Specific features, complexity, features of treatment. Literature review. Part II –

Surgical treatment. *Nephrology and Dialysis*. 2024; 26 (1): 23–34. (In Russ.). doi: 10.28996/2618-9801-2024-1-23-34.

8. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease – Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 2017; 7 (3): 1–59. doi: 10.1016/j.kisu.2017.10.001.
9. *Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R.* Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. 1990; 15 (4): 827–832. doi: 10.1016/0735-1097(90)90282-t.
10. *Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW*. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis*. 1997; 132 (2): 245–250. doi: 10.1016/s0021-9150(97)00106-8.
11. *Raggi P, Chertow GM, Torres PU, Csiky B, Naso A, Nossuli K et al*. The ADVANCE study: a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2011; 26 (4): 1327–1339. doi: 10.1093/ndt/gfq725.
12. *Amrhein V, Korner-Nievergelt F, Roth T*. The earth is flat (p > 0.05): significance thresholds and the crisis of unreplicable research. *PeerJ*. 2017 Jul 7; 5: e3544. doi: 10.7717/peerj.3544.
13. *Goodman S*. A dirty dozen: twelve p-value misconceptions. *Semin Hematol*. 2008; 45 (3): 135–140. doi: 10.1053/j.seminhematol.2008.04.003. Erratum in: *Semin Hematol*. 2011; 48 (4): 302.
14. *Saeseow S, Vantanasiri K, Suvikapakornkul R, Sukarayothin T, Apirakkittikul N, Disthabanchong S*. Parathyroidectomy is associated with slow progression of vascular calcification in maintenance haemodialysis patients: A propensity score-matched case-control study. *Nephrology (Carlton)*. 2022; 27 (4): 355–362. doi: 10.1111/nep.13986.
15. *Ma Q, Su D, Liu F, Xing H, Han X, Ma D*. Parathyroidectomy Influences Coronary Artery Calcium Score in Asymptomatic Hemodialysis Patients with Secondary Hyperparathyroidism. *Am J Nephrol*. 2020; 51 (1): 65–73. doi: 10.1159/000503806.
16. *Wang AY, Lo WK, Cheung SC, Tang TK, Yau YY, Lang BH*. Parathyroidectomy versus oral cinacalcet on cardiovascular parameters in peritoneal dialysis patients with advanced secondary hyperparathyroidism (PROCEED): a randomized trial. *Nephrol Dial Transplant*. 2023 Jul 31; 38 (8): 1823–1835. doi: 10.1093/ndt/gfad043.
17. *Паршина ЕВ, Герасимчук РП, Земченков АЮ, Зулькарнаев АБ.* Старт терапии этелкальцетидом у пациентов с ХБП5Д и вторичным гиперпаратиреозом: оценка предикторов эффективности в когортном ретроспективном исследовании. *Проблемы эндокринологии*. 2025; 71 (6): 4–14. *Parshina EV, Gerasimchuk RP, Zemchenkov AY, Zulkarnaev AB*. The start of ethelcalcetide in in patients with CKD5D and secondary hyperthyroidism: a retrospective cohort study to evaluate efficacy predictors. *Problems of Endocrinology*. 2025; 71 (6): 4–14. (In Russ.). https://doi.org/10.14341/probl13563.
18. *Hernandes FR, Canziani ME, Barreto FC, Santos RO, Moreira VM, Rochitte CE, Carvalho AB*. The shift from high to low turnover bone disease after parathyroidectomy is associated with the progression of vascular calcification in hemodialysis patients: A 12-month follow-up study. *PLoS One*. 2017 Apr 6; 12 (4): e0174811. doi: 10.1371/journal.pone.0174811.
19. *Betensky RA*. The p-Value Requires Context, Not a Threshold. *The American Statistician*. 2019; 73 (sup1): 115–117. https://doi.org/10.1080/00031305.2018.1529624.

Статья поступила в редакцию 27.10.2025 г.
The article was submitted to the journal on 27.10.2025

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-2-263-272

РАЗВИТИЕ ПРОГРАММЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В УЗБЕКИСТАНЕ: АНАЛИЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ МНОГОЛЕТНЕЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

С.И. Исмаилов, Ф.Ш. Бахритдинов, А.С. Суюмов, З.У. Абдугафуров

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

На протяжении последних двух десятилетий трансплантация почки в Узбекистане развивалась неравномерно, проходя несколько этапов становления. **Целью** работы стало проследить эти изменения, оценив, как менялся объем операций, где они выполнялись, и каким образом организовано наблюдение за пациентами после трансплантации. **Материалы и методы.** В исследование включены 2803 пациента, перенесшие трансплантацию почки с 2007-го по июль 2025 года. Анализ проводился на основе регистра получателей иммуносупрессивной терапии и данных медицинских учреждений различных уровней. Рассматривались ежегодные показатели трансплантаций, география выполнения операций, вклад отдельных центров, а также распределение пациентов по регионам реабилитации. **Результаты.** Установлено, что рост хирургической активности внутри страны стал заметным лишь после 2017 года, а наиболее выраженное увеличение числа операций пришлось на период 2021–2024 годов. За это время трансплантация почки в Узбекистане превратилась из редкой высокотехнологичной процедуры в рутинную помощь, выполняемую преимущественно в национальных центрах. Основная доля операций выполнялась в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре хирургии имени академика В. Вахидова. Наряду с этим выявлены значительные различия между регионами: большинство пациентов продолжают наблюдаться в столице, тогда как роль областных учреждений лишь начинает усиливаться. **Заключение.** Полученные данные демонстрируют формирование стабильной национальной программы трансплантации почки, при этом региональная система посттрансплантационного наблюдения остается неоднородной. Расширение возможностей областных и районных учреждений, развитие телемедицинских сервисов и подготовка кадров могут повысить доступность специализированной помощи и снизить нагрузку на центральные клиники.

Ключевые слова: трансплантация почки, Узбекистан, хирургическая активность, реабилитация, региональная доступность, специализированная помощь.

DEVELOPMENT OF THE KIDNEY TRANSPLANT PROGRAM IN UZBEKISTAN: A MULTI-YEAR ANALYSIS OF SURGICAL ACTIVITY AND FUTURE PERSPECTIVES

S.I. Ismailov, F.Sh. Bakhritdinov, A.S. Suyumov, Z.U. Abdugafurov

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

Over the past two decades, kidney transplantation (KT) in Uzbekistan has developed unevenly, passing through several stages of growth. **Objective:** to evaluate these developments by analyzing changes in the volume of transplant procedures, their geographic distribution, and the organization of post-transplant patient follow-up. **Materials and methods.** The study included 2,803 patients who underwent KT between 2007 and July 2025. Data were obtained from the national registry of recipients of immunosuppressive therapy, as well as from medical institutions at various levels of care. The analysis focused on annual transplant rates, geographic distribution of surgeries, the contribution of individual transplant centers, and the regional distribution of patients during the rehabilitation period. **Results.** An increase in surgical activity in Uzbekistan became evident only after 2017,

Для корреспонденции: Абдугафуров Зафарбек Улугбекович. Адрес: Узбекистан, 100115, Ташкент, ул. Кичик Халқа Йули, д. 10. Тел. +998901120010. E-mail: zafarbek1992@gmail.com

Corresponding author: Zafarbek Abdugafurov. Address: 10, Kichik Khalka Yuli str., Tashkent, 100115, Uzbekistan. Phone: +998901120010. E-mail: zafarbek1992@gmail.com

with the most pronounced growth in the number of KT procedures observed between 2021 and 2024. During this period, KT transitioned from a rare, high-tech procedure to a routine clinical intervention performed primarily at national transplant centers. The majority of transplantations were carried out at Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Surgery. At the same time, significant regional disparities were identified: most patients continue to receive care in the capital city, while the involvement of regional healthcare institutions remains limited but gradually increasing. **Conclusion.** The findings indicate the formation of a stable national KT program in Uzbekistan; however, the system of post-transplant follow-up across regions remains inconsistent. Strengthening the capacity of regional and district healthcare facilities, expanding telemedicine services, and enhancing personnel training may improve access to specialized care and reduce the workload on central transplant centers.

Keywords: kidney transplantation, Uzbekistan, surgical activity, rehabilitation, regional accessibility, specialized care.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие трансплантологии в Республике Узбекистан за последние два десятилетия претерпело значительную эволюцию: от единичных операций на ранних этапах становления до формирования устойчивой национальной системы оказания высокотехнологичной медицинской помощи. В настоящее время трансплантация почки является одним из наиболее стремительно развивающихся направлений отечественной хирургии, отражая как уровень организационного развития здравоохранения, так и степень интеграции современных медицинских технологий в клиническую практику.

Анализ распределения пациентов по регионам и медицинским учреждениям позволяет выявить ключевые аспекты функционирования системы посттрансплантационного наблюдения. Замеченная в ходе исследования выраженная централизация операций и последующей реабилитации в республиканских учреждениях, прежде всего в Ташкенте, с одной стороны, обеспечивает высокие стандарты качества лечения и контроль за состоянием пациентов. С другой стороны, подобная концентрация выявляет сохраняющиеся диспропорции в доступности трансплантологической помощи для населения регионов, что отражает необходимость дальнейшего развития инфраструктуры на местах.

Особый интерес представляет изучение динамики трансплантаций почки как внутри страны, так и за ее пределами. Многолетние данные демонстрируют несколько этапов формирования национальной программы: от периода ограниченного количества операций и высокой зависимости от зарубежных клиник до этапа интенсивного роста, расширения хирургической активности и укрепления позиций отечественной трансплантологии. Анализ этих процессов позволяет комплексно оценить достигнутые результаты, определить существующие проблемы и обозначить направления дальнейшего совершенствования системы трансплантационной помощи в Узбекистане.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование выполнено в формате ретроспективного когортного анализа и основано на изучении регистра пациентов, перенесших трансплантацию почки в период с 2007 года по июль 2025 года, а также на анализе медицинской документации, включающей истории болезни, выписки из стационаров и данные амбулаторного наблюдения. В исследование включены 2803 пациента – граждане Республики Узбекистан, которым была выполнена трансплантация почки как на территории страны, так и за ее пределами и которые проходили последующую реабилитацию и диспансерное наблюдение по месту жительства в различных регионах республики. Пациенты с летальным исходом в раннем послеоперационном периоде, а также иностранные граждане, оперированные в клиниках Узбекистана, были исключены из анализа, что позволило сфокусироваться на долгосрочных организационных и эпидемиологических характеристиках национальной программы.

Информационная база формировалась на основе данных региональных медицинских центров, специализированных республиканских учреждений, включая Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр хирургии имени академика В. Вахидова (РСНПМЦХ им. акад. В. Вахидова), Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи (РНЦЭМП), Национальный медицинский центр, Национальный детский медицинский центр, а также областные и районные медицинские объединения. Особое внимание уделялось регистрации пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию, что позволило корректно определить место реабилитации, последовательность медицинского наблюдения и распределение нагрузки на региональные системы здравоохранения.

Анализируемые параметры включали географию выполнения трансплантации, динамику ежегодного числа операций, распределение пациентов по областям в зависимости от места реабилитации, структуру трансплантаций по уровням медицинских учреждений (республиканский, областной, районный), а также долю операций, выполненных в Узбекистане и

за его пределами. Дополнительно изучались изменения активности различных хирургических центров и региональные особенности развития трансплантологической службы. Статистическая обработка носила описательный характер и включала оценку абсолютных и относительных величин, анализ временных рядов и визуализацию данных с использованием электронных таблиц Microsoft Excel.

Таким образом, представленная методология позволила всесторонне оценить развитие трансплантации почки в Узбекистане, динамику хирургической активности, региональные особенности реабилитации и степень интеграции высокотехнологичной помощи в систему здравоохранения страны.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы провели анализ распределения пациентов по месту прохождения реабилитации после трансплантации почки с введением их в регистр по получению иммуносупрессивных препаратов (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациентов по месту прохождения реабилитации

Distribution of patients by place of rehabilitation

Регион	Количество	%
Андижанская область	246	8,7
Бухарская область	157	5,6
Джизакская область	133	4,8
Кашкадарьинская область	319	11,4
Республика Каракалпакстан	116	4,1
Навоийская область	89	3,2
Наманганская область	211	7,5
Самаркандская область	223	7,9
Сырдарьинская область	94	3,4
Сурхандарьинская область	179	6,4
Ташкент	332	11,8
Ташкентская область	277	9,9
Ферганская область	271	9,7
Хорезмская область	156	5,6
Всего	**2803**	**100**

Анализ распределения пациентов по месту прохождения реабилитации выявил существенные диспропорции, отражающие особенности организации посттрансплантационной помощи в Республике Узбекистан. Наибольшая концентрация пациентов отмечена в столичных лечебных учреждениях, прежде всего в специализированных центрах Ташкента. Данный факт закономерен и объясняется несколькими факторами: высокой концентрацией квалифицированных специалистов, наличием современных технологий и оборудования, а также отлаженной системой междисциплинарного взаимодействия в столичных центрах.

Однако обращает на себя внимание относительно меньшая доля пациентов, проходящих реабилитацию в региональных медицинских учреждениях. Это свидетельствует о сохраняющейся централизации специализированной помощи и недостаточной развитости инфраструктуры на местах. В результате возникает дисбаланс в доступности реабилитационных услуг, что может приводить к задержке начала восстановительных мероприятий и снижению эффективности последующего наблюдения за пациентами.

Мы провели анализ распределения трансплантаций почки по странам, где они были выполнены (рис. 1).

Анализ распределения трансплантаций почки по странам выполненной операции показал выраженное доминирование операций, выполненных на территории Республики Узбекистан. Из 2803 пациентов 2073 (73,96%) больным выполнили трансплантацию почки в отечественных клиниках, что отражает высокий уровень развития национальной трансплантологической службы. Наличие централизованной системы

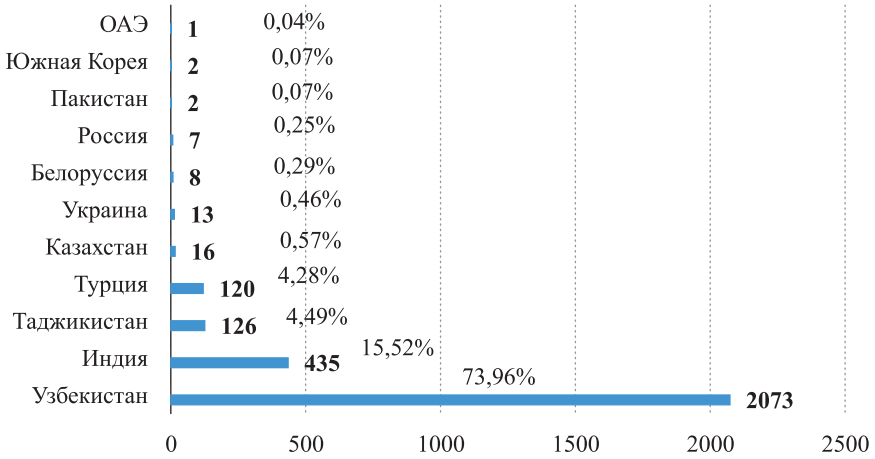


Рис. 1. Распределение трансплантаций почки по странам, где выполнена операция

Fig. 1. Distribution of kidney transplants by country where the operation was performed

оказания специализированной помощи, формирование национальной школы трансплантологов, а также поддержка государства сыграли ключевую роль в укреплении позиций страны в данной области.

Среди зарубежных направлений наибольшее значение имеет Индия (435 случаев; 15,52%), где трансплантология занимает важное место в системе медицинского туризма. Существенная часть пациентов обращается также в клиники Таджикистана (126 случаев; 4,49%) и Турции (120 случаев; 4,28%), что связано с географической близостью, экономической доступностью и наличием специализированных центров.

Остальные страны представлены единичными случаями: Казахстан – 16 (0,57%), Украина – 13 (0,46%), Белоруссия – 8 (0,29%), Россия – 7 (0,25%), Пакистан и Южная Корея – по 2 (0,07%), ОАЭ – 1 (0,04%). Эти показатели свидетельствуют о том, что обращение в медицинские учреждения данных государств носит эпизодический характер, в основном по индивидуальным причинам.

Структура распределения трансплантаций почки по странам, где выполнена операция, ясно демонстрирует, что Узбекистан является не только ведущим национальным, но и региональным центром трансплантации почки. Значительная часть операций за пределами страны приходится на Индию и Турцию, которые традиционно являются популярными направлениями медицинского туризма.

Государственная поддержка и заинтересованность в развитии сферы трансплантологии, обеспечение ее доступности для граждан по всей стране: принят Закон Республики Узбекистан № ЗРУ-768 «О трансплантации органов и тканей человека» от 11 мая 2022 года, вышло Постановление Президента Республики Узбекистан № ПП-5254 «О мерах по трансформации хирургической службы, повышению качества и расширению масштаба хирургических операций в регионах» от 4 октября 2021 года. Это дало основу развития хирургии в региональных медицинских учреждениях, где регулярно стали проводить высокотехнологичные операции, включая трансплантацию почки от живого родственного донора, с участием бригады хирургов и анестезиологов. Параллельно организовывались мероприятия по обучению местного медицинского персонала по освоению знаний трансплантологии, организовывались семинары, врачи проходили курсы повышения квалификации как в центре хирургии, так и в ведущих зарубежных клиниках ближнего и дальнего зарубежья.

Мы провели анализ распределения проведенных трансплантаций почки по областям Республики Узбекистан среди реабилитируемых больных, который показал значительные различия в географическом охвате и доступности высокотехнологичной хирургической помощи.

Всего среди исследуемых больных с 2019-го по 2025 год было выполнено 303 операции трансплантации почки в областях страны (рис. 2).

Наибольший удельный вес приходится на Самаркандскую область – 93 случая (30,79%), что почти в три раза превышает показатели ближайших регионов. Существенный вклад также внесли Сурхандарьинская область (42 случая; 13,91%) и Республика Каракалпакстан (32 случая; 10,6%). В совокупности на эти три территории приходится более половины всех трансплантаций (55,3%), что свидетельствует о концентрации ресурсов и специалистов в ограниченном числе регионов. Вторая группа регионов (Сырдарьинская, Хорезмская, Навоийская, Кашкадарьинская, Наманганская, Бухарская и Андижанская области) демонстрирует относительно равномерные показатели – от 16 до 19 трансплантаций (5–6% от общего числа операций). Такая тенденция отража-

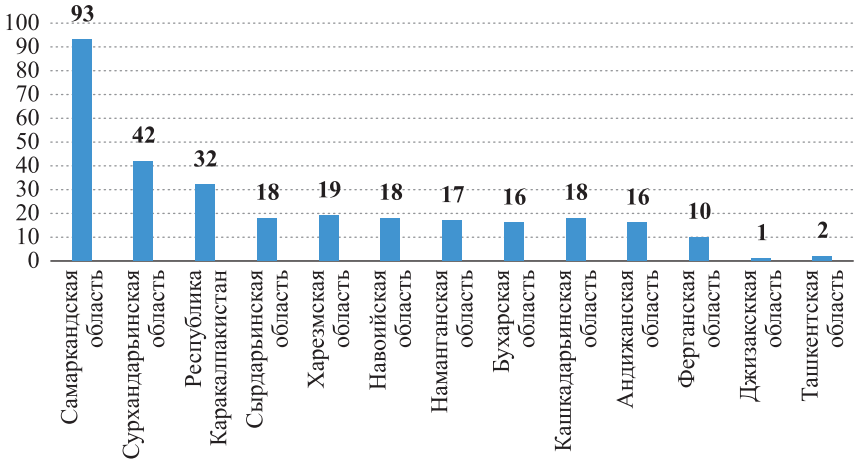


Рис. 2. Распределения трансплантаций почки по областям Республики Узбекистан, среди реабилитируемых больных

Fig. 2. Distribution of kidney transplants by regions of the Republic of Uzbekistan among rehabilitated patients

ет постепенное внедрение трансплантологической практики на местах, однако без выхода на ведущие позиции. Наименее активными оказались Ферганская область (10 операций; 3,31%), Ташкентская область (2 операции; 0,66%) и Джизакская область (1 операция; 0,33%). Их совокупный вклад составляет менее 5% от всех трансплантаций. Это указывает на крайне низкую доступность трансплантационной помощи для населения данных регионов, что, вероятно, связано с дефицитом подготовленных кадров, отсутствием специализированных центров и ограниченной материально-технической базой.

Анализ распределения пациентов, оперированных на районном уровне, показал выраженную неравномерность хирургической активности между различными регионами страны. Из общего числа оперированных пациентов (26 случаев) наиболее высокий показатель продемонстрировала Сурхандарьинская область – Деновское районное медицинское объединение, где было выполнено 6 операций (23,08%). Второе место по числу вмешательств занимает Кокандский филиал Республиканского центра экстренной медицинской помощи – 4 случая (15,38%), на третьем месте – Каракалпакстан, Берунийское районное медобъединение – 3 случая (11,54%). Совокупно эти учреждения обеспечили почти половину всех вмешательств (50%). Средний уровень хирургической активности продемонстрировали Турткульское и Китобское районные медицинские объединения (по 7,69%). Остальные регионы представлены единичными случаями (по 1 пациенту, 3,85%), включая районы Андижанской, Ферганской, Кашкадарьинской, Навоийской, Бухарской, Ташкентской и Хорезмской областей, а также Кунградский район Каракалпакстана (рис. 3).

Такая картина указывает на существенную диспропорцию в доступности и организации высокотехнологичной хирургической помощи на районном уровне. При этом примечателен вклад Каракалпакстана, где сразу три районных медицинских объединения (Беруний, Турткуль, Кунград) суммарно обеспечили 26,92% всех операций, что свидетельствует о заметной активности данного региона, несмотря на общие инфраструктурные ограничения.

Согласно проведенному исследованию, среди анализируемых 2803 больных общее количество пациентов, оперированных в республиканских учреждениях здравоохранения города Ташкента, составило 1771 человек (63,18%). При этом выявляется выраженное доминирование Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра хирургии имени академика В. Вахидова, где было выполнено 1379 операций (77,87%). Данный показатель свидетельствует о ведущей роли Центра в системе высокотехнологичной хирургической помощи населению республики. Высокая концентрация пациентов в данном учреждении объясняется наличием современного хирургического оборудования, кадрового потенциала, специализированных отделений, а также признанного статуса национального центра хирургии.

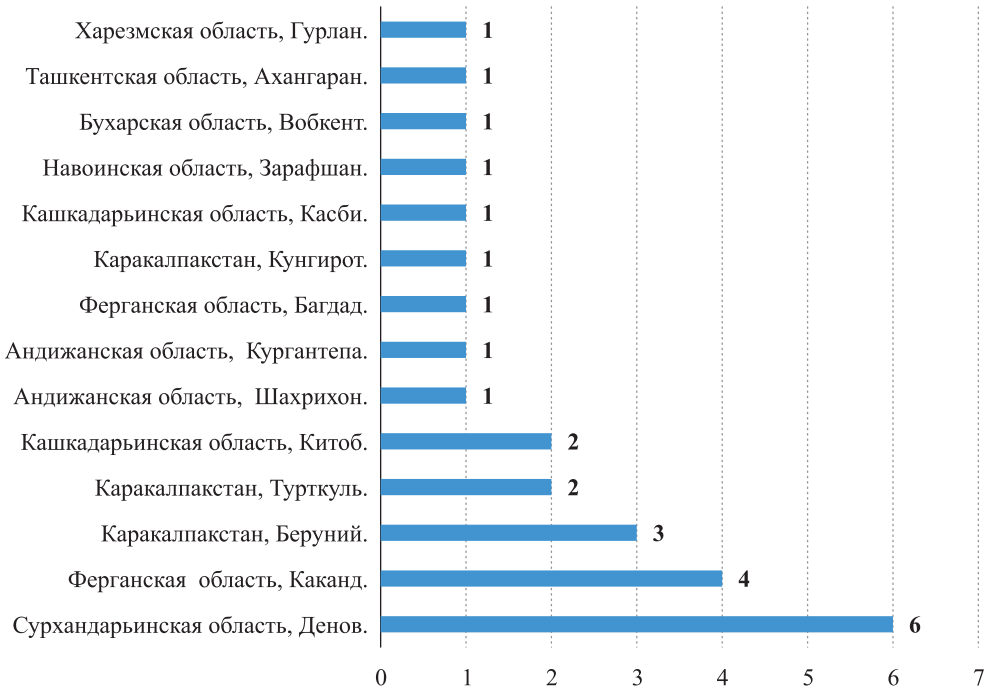


Рис. 3. Распределение пациентов, оперированных на районном уровне

Fig. 3. Distribution of patients operated at the regional level

На втором месте по количеству выполненных оперативных вмешательств находится Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи (320 пациентов, 18,07%). Это отражает значимую роль Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи как многопрофильного учреждения, принимающего пациентов в ургентном порядке, включая пострадавших с тяжелыми повреждениями и жизнеугрожающими состояниями.

Значительно меньшая доля пациентов приходится на Национальный медицинский центр (49 случаев, 2,77%) и Детский медицинский центр (22 случая, 1,24%). Несмотря на недавнее начало деятельности, эти учреждения также ориентированы на специализированные направления и оказывают высокотехнологичную помощь в определенных возрастных и нозологических группах, что объясняет сравнительно низкие показатели общего числа операций.

Центральный военный госпиталь участвовал в оказании хирургической помощи единично (1 случай, 0,06%), выполнив операцию военнослужащему (рис. 4).

Мы проанализировали динамику трансплантаций почек в Республике Узбекистан и за рубежом с 2007-го по июль 2025 г. среди 2803 больных, проходивших реабилитацию (табл. 2).

Анализ представленных данных за период с 2007-го по 2025 г. позволяет выделить несколько этапов в развитии трансплантационной службы в Республике Узбекистан. Всего за 18-летний промежуток проанализированы 2803 больных с трансплантацией почки, из них 2073 (74%) прооперированы в нашей стране и 730 (26%) – за рубежом.

I этап (2007–2012 гг.) – становление программы. В указанный период трансплантация почки в Узбекистане имела единичный характер: в среднем от 0 до 4 операций в год. Пациенты в большей степени были вынуждены обращаться в зарубежные клиники, где ежегодно выполнялось до 9 трансплантаций. Совокупно за этот этап в республике проведено всего 7 операций, тогда как за границей – 18. Данные свидетельствуют о том, что трансплантационная помощь на территории страны находилась в начальной стадии развития.

II этап (2013–2017 гг.) – постепенный рост и доминирование зарубежных центров. Начиная с 2013 г.,

Таблица 2

Динамика трансплантаций почек в Республике Узбекистан и за рубежом среди больных, проходивших реабилитацию

Trends in kidney transplants in the Republic of Uzbekistan and abroad among patients undergoing rehabilitation

Год	Узбекистан	За рубежом	**Итого:**
2007	0	1	**1**
2010	2	2	**4**
2011	4	6	**10**
2012	1	9	**10**
2013	4	27	**31**
2014	10	32	**42**
2015	6	39	**45**
2016	4	67	**71**
2017	16	42	**58**
2018	93	29	**122**
2019	113	49	**162**
2020	104	33	**137**
2021	275	53	**328**
2022	375	82	**457**
2023	428	109	**537**
2024	441	105	**546**
2025	197	45	**242**
Итого:	**2073**	**730**	**2803**

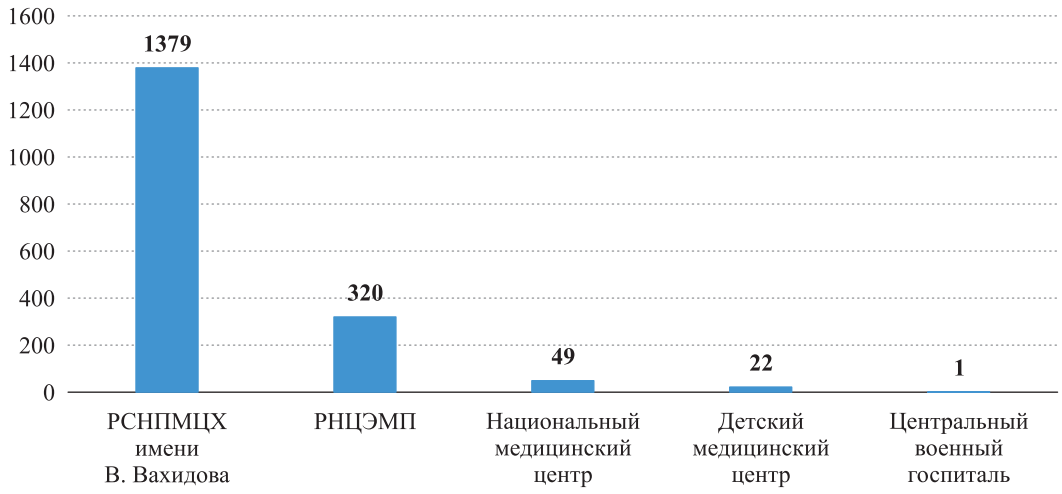


Рис. 4. Анализ распределения реабилитируемых пациентов, оперированных в клиниках республиканского уровня

Fig. 4. Analysis of the distribution of rehabilitated patients operated in clinics at the national level

количество трансплантаций почек в Узбекистане увеличилось, и среди исследуемых нами больных в 2017 году прооперировались 16. Однако при этом большинство вмешательств продолжало выполняться за рубежом: в 2013 г. – 27 операций, а в 2016 г. их число достигло 67. Совокупный показатель за этот период составил 40 операций в Узбекистане против 207 за рубежом, что отражает сохраняющуюся зависимость пациентов от зарубежной медицинской помощи.

III этап (2018–2021 гг.) – переломный момент и резкий рост. С 2018 года отмечается качественный скачок: среди исследуемых в Узбекистане проведено 93 трансплантации, что почти втрое превышает аналогичный показатель за рубежом (29). В последующие годы положительная динамика сохраняется: 2019 г. – 113 операций, 2020 г. – 104, 2021 г. – 275.

Таким образом, впервые с начала наблюдений количество трансплантаций внутри страны стало превышать зарубежные показатели. Данный факт свидетельствует о формировании национальной системы трансплантации с соответствующей материально-технической базой и кадровым потенциалом.

IV этап (2022–2024 гг.) – стабилизация и лидерство национальной программы. Наиболее интенсивный рост пришелся на последние годы: 2022 г. – 375 операций, 2023 г. – 428, 2024 г. – 441. При этом за рубежом пропорциональное соотношение трансплантаций снизилось, хоть годовой показатель и достигает уровня 100–110 операций. Максимального значения совокупный показатель достиг в 2023 г. – 537 трансплантаций, из которых более 80% были выполнены в Узбекистане.

V этап (2025 г., частичные данные). На момент учета за 2025 г. зарегистрировано 197 операций в Узбекистане и 45 за рубежом. Указанный низкий показатель по сравнению с предыдущими годами, вероятнее всего, связан с неполным календарным годом.

Мы провели анализ динамики операций у реабилитируемых больных в основных центрах Узбекистана. Основные центры – это те, которые выполняют трансплантацию почки самостоятельно. На основании представленных данных по динамике операций в основных центрах Узбекистана видно, что трансплантационная активность в республике сконцентрирована в ведущих специализированных центрах, где была выполнена 1881 операция, что составляет 90,73% от всех операций в стране (n = 2073). Это свидетельствует о высокой концентрации высокотехнологичной хирургической помощи в ограниченном числе учреждений, прежде всего в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре хирургии имени академика В. Вахидова (табл. 3).

По данным аналитической таблицы, основной объем трансплантаций традиционно выполняется в Республиканском специализированном центре хирургии. Среди исследуемых за весь период здесь произведено 1379 операций (66,52% от всех по стране). Особенно яркий рост наблюдается начиная с

Таблица 3

Динамика операций в основных центрах Узбекистана

Dynamics of surgical activity in major transplant centers in Uzbekistan

Год	РСНПМЦХ имени В. Вахидова	РНЦЭМП	Национальный детский медицинский центр	Национальный медицинский центр	Самаркандский областной центр	Сырдарьинский областной центр
2010	2	0	0	0	0	0
2011	4	0	0	0	0	0
2012	1	0	0	0	0	0
2013	4	0	0	0	0	0
2014	10	0	0	0	0	0
2015	6	0	0	0	0	0
2016	4	0	0	0	0	0
2017	16	0	0	0	0	0
2018	76	17	0	0	0	0
2019	80	32	0	0	0	0
2020	87	14	0	0	1	0
2021	215	42	0	0	3	0
2022	252	59	1	0	15	1
2023	262	73	9	4	22	7
2024	252	63	8	24	38	9
2025	108	20	4	21	14	1
Итого:	**1379**	**320**	**22**	**49**	**93**	**18**
Итого:	**1881 (90,73%)**					

2017 года: если в 2016 году было проведено лишь 4 операции, то уже в 2017 году – 16, а в 2018–2019 годах – 76 и 80 соответственно. Пик активности пришелся на 2021–2023 годы, когда ежегодное число трансплантаций стабильно превышало 200 операций. Таким образом, Центр хирургии им. В. Вахидова остается ключевым драйвером развития трансплантологии в республике.

Вторым по значимости центром является Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, где выполнено 320 операций (15,6% от всех по стране). Вклад учреждения особенно усилился с 2018 года, когда было зафиксировано 17 операций, а затем в 2019 году показатель вырос до 32 трансплантаций. Наибольший рост отмечается в период 2021–2023 годов, когда ежегодное количество операций достигало 42–73.

Начиная с 2022 года в трансплантационный процесс активно включились и другие учреждения: Национальный детский медицинский центр – 22 операции (с 2022 года), что свидетельствует о развитии педиатрической трансплантологии; Национальный медицинский центр – 49 операций (начиная с 2023 года); Самаркандский областной центр – 94 операции, причем особенно выраженный рост отмечен в 2023–2024 годах (22 и 38 операций соответственно); Сырдарьинский областной центр – 18 операций (с 2022 года), что указывает на постепенное расширение трансплантационных услуг в областях.

В 2025 году отмечается некоторое снижение числа трансплантаций, что связано с тем, что 2025 год еще не кончился.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе исследования результаты демонстрируют стремительное развитие трансплантологической службы Республики Узбекистан, которая за относительно короткий исторический период прошла путь от единичных операций к созданию полноценной национальной программы, обеспечивающей основную долю трансплантаций почки для населения страны. Этот процесс соответствует общемировым тенденциям, описанным в крупных международных обзорах и сравнительных отчетах по трансплантологии. Согласно данным Global Observatory on Donation and Transplantation [10] и United States Renal Data System [18], большинство стран мира в течение последнего десятилетия демонстрируют устойчивый рост объемов трансплантации почки, что рассматривается ведущими экспертами как ключевой элемент расширения доступа к заместительной терапии терминальной почечной недостаточности.

Международные исследования подчеркивают, что на ранних этапах формирования трансплантационных программ страны нередко опираются на зарубежную помощь, включая выполнение операций в клиниках с уже сформированными школами трансплантологии [5, 9, 11, 15]. Подобная зависимость от внешних центров характерна для государств с ограниченными ресурсами, недостаточным оснащением, дефицитом кадров и отсутствием нормативно-правовой базы. Наши данные подтверждают эту закономерность: до 2017 года значительная часть узбекских пациентов проходила трансплантацию за границей, преимущественно в Индии, Турции и Таджикистане. Однако начиная с 2018 года наблюдается переломный момент: количество операций, выполняемых внутри страны, стремительно растет и впервые существенно превышает зарубежные показатели. Данная динамика сопоставима с описанными в литературе примерами успешного становления трансплантационных программ в странах со средним уровнем дохода, которые, как и Узбекистан, проходили стадии обучения кадров за рубежом, создания референс-центров и внедрения национального законодательства [5, 9, 11, 15].

Ключевым элементом трансплантологической программы в большинстве стран мира является концентрация сложных вмешательств в высокообъемных специализированных центрах. Обзоры по организации специализированной помощи [16] и крупные исследования, посвященные влиянию объема центра на результаты трансплантации почки [3, 4, 7, 13, 14], указывают на преимущество учреждений с большим числом операций в год, где формируются устойчивые междисциплинарные команды, стандартизированные протоколы и инфраструктура для комплексного наблюдения пациента. Наши данные соответствуют этим мировым выводам: более 90% всех трансплантаций почки в Узбекистане выполняется в ограниченном числе высокоспециализированных центров, среди которых ведущая роль принадлежит Республиканскому специализированному научно-практическому медицинскому центру хирургии имени академика В. Вахидова.

Вместе с тем важной задачей любой развивающейся системы трансплантации является обеспечение географической доступности помощи, поскольку чрезмерная централизация может приводить к перегрузке крупных учреждений и ухудшению доступности наблюдения в отдаленных регионах. Согласно данным Global Kidney Health Atlas [12] и ряда тематических обзоров [8, 17], региональные диспропорции в доступе к трансплантации и посттрансплантационному наблюдению являются типичными для стран с переходной экономикой. Наше исследование выявило подобную картину: несмотря на появление трансплантационной активности в областных и отдельных районных центрах, значительная доля реабилитационных пациентов продолжает концентрироваться в Ташкенте, а территориальная

доступность высокотехнологичной помощи остается неравномерной.

Тем не менее выявленный рост трансплантаций в областях и выполнение ряда операций в районных учреждениях свидетельствуют о начавшейся постепенной децентрализации программы. Зарубежные модели, описанные Babloyan et al. [5], Guy-Frank et al. [11], а также Furia et al. [9], демонстрируют, что расширение трансплантационных программ на периферийный уровень возможно и устойчиво при условии сохранения методологической и организационной поддержки со стороны крупных национальных центров. Такие модели позволяют повысить территориальную доступность помощи и снизить социальные и экономические барьеры для пациентов.

Особое значение в контексте долгосрочных результатов трансплантации имеет качество посттрансплантационного наблюдения, которое, согласно Szymańska et al. [17], играет роль, сопоставимую с хирургическими и иммунологическими факторами. Наши данные подтверждают необходимость дальнейшего развития региональной системы реабилитации, включая создание специализированных кадровых команд, расширение телемедицинских технологий и формирование единой национальной системы мониторинга пациентов.

Подход, реализуемый в Республике Узбекистан, в значительной степени перекликается с позицией академика С.В. Готье, который в своих публикациях и интервью подчеркивает необходимость сочетания ведущего национального центра с расширением сети региональных трансплантационных программ. По его данным, в России сложнейшие трансплантации органов уже перестали быть исключительно прерогативой столичных клиник, а с каждым годом в регионах открывается все больше центров, хотя пока трансплантационная помощь остается в значительной степени «достоянием крупных центров» и требует дальнейшего расширения доступности на местах [1, 2].

Таким образом, сопоставление узбекского опыта с мировыми моделями демонстрирует, что Республика Узбекистан прошла ключевые этапы становления трансплантологической службы в соответствии с глобальными закономерностями и в ближайшие годы имеет потенциал для дальнейшего укрепления роли в регионе как центра компетенций по трансплантации почки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ 2803 пациентов, перенесших трансплантацию почки в Узбекистане и за его пределами в период с 2007-го по 2025 год, демонстрирует стремительный рост национальной трансплантологической программы. За последние годы страна перешла от зависимости от зарубежных клиник к устойчивому преобладанию операций, выполняемых внутри республики, что стало возможным благодаря деятельности крупных специализированных центров, прежде всего Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра хирургии имени академика В. Вахидова. Эти учреждения накопили уникальный клинический опыт, стандартизировали подходы и обеспечили интенсивное развитие хирургической активности.

Вместе с тем выявленные различия между регионами по уровню хирургической активности и реабилитационного наблюдения подчеркивают необходимость последовательного укрепления областных и районных центров. Нынешняя централизация, хотя и обеспечивает высокое качество лечения, приводит к чрезмерной нагрузке на специализированные республиканские центры, что ограничивает их возможности для дальнейшего роста. Развитие региональной инфраструктуры – усиление материально-технической базы, внедрение телемедицинских технологий, подготовка местных специалистов и стандартизация мониторинга – позволит перераспределить поток пациентов, обеспечив своевременное наблюдение по месту проживания.

Таким образом, столица должна продолжать играть роль национального центра компетенций, одновременно формируя сеть «сателлитных» учреждений в регионах. Такая модель обеспечит преемственность, единые стандарты ведения, улучшение доступности трансплантологической помощи и снижение нагрузки на ведущие специализированные центры, что в перспективе укрепит устойчивость и эффективность трансплантационной службы по всей стране.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Готье СВ*. Векторы отечественной трансплантологии: развитие технологий, трансляция в регионы. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2025; 27 (2): 6–7. *Gautier SV*. Advancing transplantology in Russia: innovation pathways and regional deployment. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2025; 27 (2): 6–7.
2. *Готье СВ*. Сложнейшие трансплантации органов перестали быть прерогативой столичных клиник. *Российская газета*. 2024; 11 января. *Gauthier SV*. Complex organ transplants are no longer the preserve of capital clinics. *Rossiyskaya Gazeta*. 2024; January 11. Доступно по/Available at: https://rg.ru/2024/01/11/obyknovennoe-chudo.html.
3. *Axelrod DA, Guidinger MK, McCullough KP, Leichtman AB, Punch JD, Merion RM*. Association of center volume with outcome after liver and kidney transplan-

tation. *Am J Transplant*. 2004; 4 (6): 920–927. doi: 10.1111/j.1600-6143.2004.00462.x.
4. *Azhar A, Defor E, Bandyopadhyay D, Kamal L, Tanriover B, Gupta G*. Long-term effects of center volume on transplant outcomes in adult kidney transplant recipients. *PLoS One*. 2024; 19 (6): e0301425. doi: 10.1371/journal.pone.0301425.
5. *Babloyan S, Voskanyan M, Shekherdimian S, Nazaryan H, Arakelyan S, Kurkchyan K et al*. Kidney transplantation in low- to middle-income countries: outcomes and lessons learned from Armenia. *Ann Transplant*. 2021; 26: e930943. doi: 10.12659/AOT.930943.
6. *Boenink R, Kramer A, Masoud S, Rodríguez-Benot A, Helve J, Bistrup C et al*. International comparison and time trends of first kidney transplant recipient characteristics across Europe: an ERA Registry study. *Nephrol Dial Transplant*. 2024; 39 (4): 648–658. doi: 10.1093/ndt/gfad189.
7. *Contento MN, Vercillo RN, Malaga-Dieguez L, Pehrson LJ, Wang Y, Liu M et al*. Center volume and kidney transplant outcomes in pediatric patients. *Kidney Med*. 2020; 2 (3): 297–306. doi: 10.1016/j.xkme.2020.01.008.
8. *Duong NX, Thai MS, Tran NS, Hoang KC, Chau QT, Ngo XT et al*. The impact of socioeconomic factors on kidney transplantation: a systematic review of low- and middle-income countries. *Soc Int Urol J*. 2024; 5 (5): 349–360. doi: 10.3390/siuj5050054.
9. *Furia FF, Shoo JG, Ruggajo PJ, Mngumi JW, Gudila V, Muhiddin MA et al*. Establishing kidney transplantation in a low-income country: a case in Tanzania. *Ren Replace Ther*. 2024; 10 (1): 29. doi: 10.1186/s41100-024-00545-z.
10. Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT). International report on organ donation and transplantation activities 2020. Madrid: ONT/WHO; 2021. Available at: https://www.transplant-observatory.org.
11. *Guy-Frank CJ, Persaud K, Butsenko D, Jindal RM, Guy SR*. Developing a sustainable renal transplant program in low- and middle-income countries: outcome, challenges, and solutions. *World J Surg*. 2019; 43 (11): 2658–2665. doi: 10.1007/s00268-019-05093-w.
12. International Society of Nephrology. ISN Global Kidney Health Atlas. 3rd ed. Brussels: ISN; 2023. Available at: https://www.theisn.org/initiatives/global-kidney-health-atlas/.
13. *Merzkani M, Chang SH, Murad H, Lentine KL, Mattu M, Wang M et al*. The association of center volume with transplant outcomes in selected high-risk groups in kidney transplantation. *BMC Nephrol*. 2023; 24 (1): 61. doi: 10.1186/s12882-023-03099-0.
14. *Montgomery JR, Sung RS, Woodside KJ*. Transplant center volume: is bigger better? *Am J Kidney Dis*. 2019; 74 (4): 432–434. PMID: 31358310.
15. *Nkunu V, Tungsanga S, Diongole HM, Sarki A, Arruebo S, Caskey FJ et al*. Landscape of kidney replacement therapy provision in low- and lower-middle income countries: a multinational study from the ISN-GKHA. *PLOS Glob Public Health*. 2024; 4 (12): e0003979. doi: 10.1371/journal.pgph.0003979.
16. *Ramsay AIG, Tomini SM, Gandhi S, Fulop NJ, Morris S*. Centralisation of specialised healthcare services: a scoping review of definitions, types, and impact on outcomes. *Health Soc Care Deliv Res*. 2025; 13 (43): 21–90. doi: 10.3310/REMD6648.
17. *Szymańska A, Mucha K, Kosieradzki M, Nazarewski S, Pączek L, Foroncewicz B*. Organization of post-transplant care and the 5-year outcomes of kidney transplantation. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19 (4): 2010. doi: 10.3390/ijerph19042010.
18. United States Renal Data System. 2021 USRDS Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. Chapter 11: International Comparisons. Bethesda, MD: NIDDK, NIH; 2021. Available at: https://usrds-adr.niddk.nih.gov/2021.

Статья поступила в редакцию 10.12.2025 г.
The article was submitted to the journal on 10.12.2025



ПОЗДРАВЛЯЕМ ВЯЧЕСЛАВА ЛЕОНИДОВИЧА КОРОБКУ С ЮБИЛЕЕМ

8 апреля 2026 года свой 60-летний юбилей отметил Вячеслав Леонидович Коробка, доктор медицинских наук, профессор, главный врач ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», заведующий кафедрой реконструктивной, пластической, торакальной, сердечно-сосудистой хирургии и трансплантологии ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России, главный внештатный специалист по хирургии и трансплантологии Министерства здравоохранения Ростовской области.

Окончив Ростовский ордена Дружбы народов медицинский институт в 1989 году, свой профессиональный путь Вячеслав Леонидович продолжил в стенах Ростовского научно-исследовательского онкологического института, где формировался его характер хирурга.

С 2005 года В.Л. Коробка работает в Ростовской областной клинической больнице (РОКБ), с 2013 года – в качестве главного врача. Сегодня больница – это мощный лечебно-консультативный и организационно-методический центр, в составе которого пять крупных областных медицинских центров по основным направлениям практической медицины, где трудится сплоченная команда единомышленников и профессионалов – оплот донорства и высоких технологий на Юге России.

Под руководством В.Л. Коробки с 2013 года на базе РОКБ инициирована и развивается региональная программа трансплантации донорских органов и тканей – главное дело жизни Вячеслава Леонидовича. Донская программа трансплантации зарекомендовала себя как одна из самых успешных и динамично развивающихся в России. По числу выполняемых трансплантаций солидных органов РОКБ входит в пятерку лидеров среди региональных трансплантологических центров нашей страны. Высокотехнологичная медицина на Дону превратилась из мечты в повседневную реальность.

В.Л. Коробка – один из ведущих российских экспертов по хирургическому лечению хронического панкреатита. Разработанная им в 2018 году оригинальная методика трансплантации комплекса «почка – поджелудочная железа» позволяет предупредить развитие тяжелых послеоперационных осложнений. Сегодня Ростовская областная клиническая больница входит в тройку российских лидеров по числу таких операций.

Практическая работа Вячеслава Леонидовича неразрывно связана с научной и педагогической деятельностью. В 2000 году он защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Новый способ наложения межкишечного соустья в хирургии рака ободочной кишки: экспериментально-клиническое исследование», в 2014 году – докторскую диссертацию «Хирургическое лечение осложненных форм хронического панкреатита и профилактика послеоперационных осложнений».

С 2008 года В.Л. Коробка преподает в Ростовском государственном медицинском университете. В 2022 году он создал и возглавил на базе РОКБ кафедру реконструктивной, пластической, торакальной, сердечно-сосудистой хирургии и трансплантологии. В 2024 году ему присвоено ученое звание профессора. Его авторству принадлежат более 200 научных работы, 4 учебных пособия, 34 патента на изобретения. В.Л. Коробка входит в состав аттестационной комиссии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России по рассмотрению решений о присуждении ученых степеней,

ученого и диссертационного совета Ростовского государственного медицинского университета, является членом редакционной коллегии «Медицинского вестника Юга России». Под его руководством сформировалась научная хирургическая школа на Юге России, защищены 4 кандидатские и докторская диссертации.

Научный вклад В.Л. Коробки, его организаторский талант высоко оценены и по достоинству отмечены государством и профессиональным сообществом: он награжден орденом Пирогова, нагрудным знаком «Отличник здравоохранения», благодарственными письмами Президента и Государственной Думы, Почетной грамотой Минздрава России, памятной медалью «Академик В.И. Шумаков», медалью Института хирургии имени А.В. Вишневского, медалью «За доблестный труд на благо Донского края», медалью Русской православной церкви «Патриаршая благодарность».

И сегодня Вячеслав Леонидович как практикующий хирург проводит более 300 сложнейших операций в год.

Коллектив ФГБУ «НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России и редколлегия журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» во главе с главным редактором академиком РАН С.В. Готье сердечно поздравляют Вячеслава Леонидовича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, бодрости духа, успехов в профессиональной деятельности.

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 10.06.26.

Тираж 1000 экз.

ООО «Издательство «Триада».
ИД № 06059 от 16.10.01 г.
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 514,
тел.: +7 (915) 730-10-37, +7 (910) 647-49-85
E-mail: triadatver@yandex.ru
https://www.triada.tver.ru

Заказ ___