

ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Том IV
2012 год

Под редакцией С.В. Готье

Министерство здравоохранения Российской Федерации

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии
и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»
Минздрава России

Общероссийская общественная организация трансплантологов
«Российское трансплантологическое общество»

Трансплантология: итоги и перспективы

Том IV

2012 год

Под редакцией академика С.В. Готье

Москва
2013

УДК 616-089.819.843
ББК 52.5
T65

T65 **Трансплантология: итоги и перспективы. Том IV. 2012 год /**
Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада»,
2013. – 304 с.: ил.

ISBN 978-5-94789-577-3

В IV томе ежегодного издания представлены аналитические материалы и документы, отражающие клинические и научные аспекты проблем трансплантологии и разработки искусственных органов в Российской Федерации по итогам 2012 года.

Приведены анализ клинических результатов трансплантации и донорства органов по данным V сообщения национального регистра Российского трансплантологического общества и экспертная оценка потребности населения РФ в медицинской помощи по трансплантации органов и донорского ресурса; сформулирована концепция развития сети медицинских организаций, осуществляющих деятельность в сфере донорства и трансплантации органов.

Обзор научных достижений представлен в виде материалов отчетов о научно-исследовательских работах, авторефератов диссертаций, защищенных в 2012 г. по специальности 14.01.24 «трансплантология и искусственные органы», а также библиографии работ отечественных ученых, опубликованных в 2012 г. за рубежом.

ББК 52.5

Авторы и составители:

**С.В. Готье, О.П. Шевченко, О.М. Цирульников, Я.Г. Мойсюк,
С.М. Хомяков, О.В. Орлова, Е.В. Яновская, О.Н. Щетинина**

ISBN 978-5-94789-577-3

© С.В. Готье, 2013
© Макет ООО «Издательство «Триада», 2013

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
I. ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2012 ГОДУ (V сообщение регистра Российского трансплантологического общества).....	7
II. ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ, ДОНОРСКОГО РЕСУРСА И ПЛАНИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ СЕТИ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ (ЦЕНТРОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ).....	29
III. ДОНОРСТВО ОРГАНОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ: ПРАВОВЫЕ, ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ И ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ	41
IV. VI ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ	53
V. СТРАТЕГИЯ РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НА ПЕРИОД ДО 2025 ГОДА	61
VI. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	85
Наиболее значимые результаты НИР за 2012 г. по комплексной проблеме медицины «Трансплантология и искусственные органы» (научный совет по трансплантологии и искусственным органам № 21)	86
VII. ДИССЕРТАЦИИ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ», ЗАЩИЩЕННЫЕ В 2012 г.	93
Перечень советов по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности «трансплантология и искусственные органы».....	94
Авторефераты диссертаций по специальности «трансплантология и искусственные органы», защищенных в 2012 г.	95

Авторефераты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук	97
<i>Герасимова О.А.</i>	
Трансплантация при терминальных стадиях аутоиммунных заболеваний печени: пути улучшения результатов	98
Авторефераты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук	145
<i>Гичкун О.Е.</i>	
Клиническое значение растворимой формы лиганда CD40 при трансплантации печени детям раннего возраста.....	146
<i>Глушкова Т.В.</i>	
Новые подходы к созданию ксеноперикардальных биопротезов для сердечно-сосудистой хирургии (экспериментальное исследование)	168
<i>Копылова Ю.В.</i>	
Острое повреждение почек и методы заместительной почечной терапии при трансплантации сердца	194
<i>Людуп А.В.</i>	
Применение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для коррекции фиброзирующего повреждения печени (экспериментальное исследование).....	219
<i>Пищулина М.Э.</i>	
Диагностическое и прогностическое значение неоптерина и sCD30 при трансплантации печени	239
<i>Уваров К.А.</i>	
Мультиспиральная компьютерная томография и магнитно-резонансная томография в обследовании доноров при родственной трансплантации фрагмента печени	258
<i>Шкалова Л.В.</i>	
Клинико-морфологическая оценка печени у посмертных доноров и ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение трансплантированной печени	278

VIII. УКАЗАТЕЛЬ РАБОТ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ В 2012 г.	299
--	------------

Глубокоуважаемые коллеги!

Вашему вниманию представлен очередной, четвертый том ежегодного издания «Трансплантология: итоги и перспективы», составленный по итогам 2012 года и содержащий сведения, отражающие состояние донорства и трансплантации органов в России, обзор научных достижений, важнейшие нормативные документы.

Открывает книгу анализ клинических результатов трансплантации и донорства органов в Российской Федерации по итогам 2012 года. Мониторинг этой важной и непростой области медицины осуществляется под эгидой Профильной комиссии по трансплантологии Минздрава России и Российского трансплантологического общества.

Концепция развития здравоохранения Российской Федерации предусматривает, в качестве одной из составляющих, обеспечение населения качественной и доступной медицинской помощью в виде трансплантации органов. Развитие трансплантологии должно происходить в соответствии с реальной потребностью и в соответствии с донорским ресурсом. Для реализации этих задач необходимо создание эффективной сети медицинских организаций, осуществляющих свою деятельность в сфере донорства органов и трансплантации. Систематическая работа последних лет по организации и учету состояния и перспектив развития трансплантации органов в нашей стране позволила провести экспертную оценку потребности населения в этом виде медицинской помощи. Эти данные послужили основой концепции развития сети медицинских организаций, работающих в сфере донорства и трансплантации органов, которая также представлена в книге.

Анализ позволяет констатировать, что в последние годы в России складываются благоприятные условия для организации донорства и трансплантации органов на уровне лучших зарубежных клиник и повышения доступности трансплантологической помощи. Об этом говорят наличие накопленного клинического опыта и клинических результатов трансплантации органов, сопоставимых с таковыми в ведущих зарубежных трансплантологических центрах; активно разрабатываемая в последние годы нормативно-правовая база; развитие системы финансирования этого вида высокотехнологичной медицинской помощи; развитие материально-технической базы и другие факторы, подробный анализ которых также приведен в книге.

В области медицинской науки значимым событием стало принятие «Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года», разработанной Минздравом России при участии научного профессионального сообщества и утвержденной распоряжением Правительства РФ. Этот основополагающий документ включен в настоящее издание, поскольку он определяет направления и горизонты развития медицинской науки в нашей стране на ближайшие 13 лет.

В тексте «Стратегии» четко сформулировано, что развитие науки и инноваций – необходимое условие развития современного здравоохранения;

- медицинские исследования должны соответствовать мировому уровню и быть интегрированы в глобальное научное пространство;
- необходимо повысить результативность фундаментальных и прикладных научных исследований.

В числе важнейших задач также укрепление кадрового научного потенциала; вывод на рынок инновационных продуктов и технологий, совершенствование порядка использования объектов интеллектуальной собственности; создание условий для внедрения инновационных научных продуктов в практическое здравоохранение; совершенствование системы управления медицинской наукой, в том числе через механизмы программно-целевого финансирования; развитие механизмов мотивации научных сотрудников; развитие международного сотрудничества.

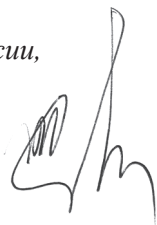
Характерной особенностью сегодняшнего дня является управление медицинскими исследованиями на основе «научных платформ». Под научными платформами подразумевают комплексные программы научных исследований по приоритетным направлениям развития науки с использованием новейших биомедицинских технологий. В рамках каких платформ формируются исследования в области трансплантологии, искусственных органов? Очевидно, что указанные направления исследований принадлежат платформам «регенеративная медицина», «инвазивные технологии», «кардиология и ангиология».

Знаменательным событием 2012 года явился VI Всероссийский съезд трансплантологов, состоявшийся 24–27 сентября 2012 года и прошедший на традиционно высоком уровне. Отчет об этом мероприятии, с особым вниманием к конференции молодых ученых «Научные школы и новые имена», также представлен в настоящем издании.

Результаты научных исследований традиционно представлены в виде краткого обзора наиболее значимых НИР по комплексной проблеме «Трансплантология и искусственные органы», подготовленного и направленного в Российскую академию медицинских наук научным советом по трансплантологии и искусственным органам, а также полными текстами авторефератов кандидатских и докторских диссертаций, защищенных в 2012 году по специальности «трансплантология и искусственные органы» и на стыке со смежными дисциплинами. В сборник также вошел указатель публикаций отечественных авторов в зарубежных изданиях.

Надеюсь, выход в свет очередного тома издания «Трансплантология: итоги и перспективы» станет полезным источником информации и дополнительным стимулом к развитию трансплантологии и регенеративной медицины в нашей стране.

Главный специалист трансплантолог Минздрава России,
директор Федерального научного центра
трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова Минздрава России
академик РАН



С.В. Гомье

**I. ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО
И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
В 2012 ГОДУ
(V сообщение регистра
Российского
трансплантологического
общества)**

ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2012 ГОДУ

(V сообщение регистра Российского
трансплантологического общества)

ВВЕДЕНИЕ

Мониторинг состояния и перспектив развития донорства и трансплантации органов в России в форме данного регистра проводится под эгидой Профильной комиссии по трансплантологии Минздрава России и Российского трансплантологического общества, предыдущие сообщения были опубликованы в 2009–2012 гг. [1–4].

С 2008 г. данные регистра входят в международный регистр International Registry of Organ Donation and Transplantation (IRODaT).

Рабочая группа выражает благодарность всем постоянным и новым участникам регистра, предоставившим данные (табл. 1).

Таблица 1

Участники регистра Российского трансплантологического общества

Данные для Национального регистра по донорству и трансплантации органов предоставлены	
Мойсюк Я.Г.	ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва
Арзуманов С.В.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт урологии» МЗ РФ, Москва
Валов А.Л.	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва
Каабак М.М., Ким Э.Ф.	ФГБУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского» РАМН, Москва
Восканян С.Э.	ФГБУ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва
Шаталов К.В.	ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАМН, Москва
Бирюкова Л.С.	ФГБУ «Гематологический научный центр» РАМН, Москва
Пинчук А.В.	ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, Москва
Нестеренко И.В.	ГБУЗ «Городская клиническая больница № 7» ДЗМ, Москва
Минина М.Г.	ГБУЗ «Городская клиническая больница № 11» (МКЦОД)
Ватазин А.В., Губарев К.К.	ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва

I. Органное донорство и трансплантация в РФ в 2012 году

Горбунов В.В.	ФГБУЗ «Клиническая больница № 119» ФМБА России, Московская область
Солошенко А.В.	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород
Платонов В.С.	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж
Медведев В.Л.	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар
Перлин Д.В., Сапожников А.Д.	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский
Жеребцов Ф.К.	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Карпенко М.А.	ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Ананьев А.Н.	ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Резник О.Н.	ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург
Гринев К.М.	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург
Будылев С.А.	СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31», Санкт-Петербург
Петров В.С.	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО
Чернявский А.М.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск
Быков А.Ю.	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск
Сальмайер А.А.	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово
Ежикеев С.А.	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск
Семченко Б.Н.	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск
Климушева Н.Ф., Серебряков И.Ю.	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург
Полторак Е.А.	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск
Колсанов А.В.	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара
Россоловский А.Н.	ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов
Загайнов В.Е.	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород
Галеев Ш.Р.	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань
Курбангулов И.Р.	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа
Рабочая группа Национального регистра по донорству и трансплантации органов (ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва) Готье С.В. Мойсюк Я.Г. Хомяков С.М. Ибрагимова О.С.	

ЦЕНТРЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ И ЛИСТЫ ОЖИДАНИЯ

На 31 декабря 2012 года в РФ функционировало 37 центров трансплантации органов, из которых трансплантация почки осуществлялась в 33, трансплантация сердца – в 9, трансплантация печени – в 12, трансплантация поджелудочной железы – в 4, трансплантация легких – в 1, трансплантация комплекса «сердце – легкие» – в 1.

Из 37 центров трансплантации 15 – учреждения федерального подчинения, в том числе 3 учреждения РАМН и 3 государственных медицинских университетов, 22 – учреждения подчинения субъектов РФ.

В выполнении государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи гражданам РФ за счет средств федерального и регионального бюджетов по профилю «трансплантация» в 2012 г. участвовали 30 центров трансплантации органов: 15 федеральных и 15 региональных.

В табл. 3 представлены данные по географии центров трансплантации и листам ожидания.

Размещение центров трансплантации на территории РФ в 2012 г. по сравнению с 2011 г. не изменилось, на базе РНЦПХТ (Санкт-Петербург) была открыта программа по трансплантации почки от родственного донора.

В листе ожидания трансплантации почки в течение 2012 г. состояло 3276 потенциальных реципиентов (13,6% от общего числа пациентов на диализе – 24 000), из них 1152 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации почки состояло 1094 потенциальных реципиентов (33,4%). Показатель смертности в листе ожидания трансплантации почки в РФ в 2012 г. составил 2,5% (83).

В листе ожидания трансплантации печени в течение 2012 г. состояло 488 потенциальных реципиентов, из них 165 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации печени состояло 181 потенциальных реципиентов (37,1%). Показатель смертности в листе ожидания трансплантации печени в РФ в 2012 г. составил 11,9% (58).

В листе ожидания трансплантации сердца в течение 2012 г. состояло 399 потенциальных реципиентов, из них 193 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации сердца состояло 156 потенциальных реципиентов (46,0%). Показатель смертности в листе ожидания трансплантации сердца в России составил 7,7% (26).

В 2012 г. было выполнено 1345 трансплантаций органов, или 9,4 на 1 млн населения (в 2011 г. – 1307, или 9,2 на 1 млн населения), табл. 2, 4.

В 2012 г. за счет средств федерального бюджета и бюджетов субъектов РФ в рамках ежегодного государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» было выполнено 1062 (78,9%) трансплантации органов (в 2011 – 62,3%; 2010 г. – 56,6%). Государственное задание на высокотехнологичную медицинскую помощь остается основным механизмом финансирования трансплантаций органов в России, его доля в общем числе трансплантаций органов с 2010 г. увеличилась на 22,3%, рис. 1.

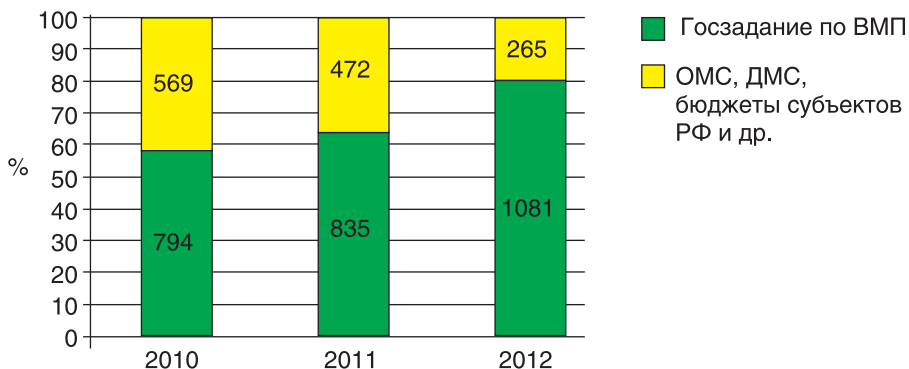


Рис. 1. Финансирование трансплантаций органов в РФ в 2010–2012 гг.

Таблица 2

Донорство и трансплантация органов в РФ в 2012 году

	Количество, абс.	Показатель на 1 млн населения*
Донорство органов		
Всего доноров органов	711	
Трупные доноры	412	2,9
Живые родственные доноры	299	2,1
Трансплантация органов		
Всего пересажено органов, из них несовершеннолетним	1345 125	9,4
Почка, в т. ч. трупная от живого донора из них несовершеннолетним	941 746 195 56	6,6 5,2
Печень, в т. ч. трупная от живого донора из них несовершеннолетним	243 139 104 62	1,7 1,0
Сердце из них несовершеннолетним	132 7	0,9
Поджелудочная железа	23	0,2
Легкие	5	
Комплекс сердце – легкие	2	

Примечание. * Численность населения РФ в 2012 г. – 143,2 млн чел. (http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/demo/prPopul.xls)

Таблица 3

**Размещение центров трансплантации на территории РФ,
листы ожидания**

Численность населения РФ в 2012 г. (млн чел.)*	Российская Федерация	ЦФО			ЮФО		СЗФО	СФО				УФО		ПФО				
		Москва и Московская область	Белгородская область	Воронежская область	Краснодарский край	Волгоградская область	Санкт-Петербург и Ленинградская область	Новосибирская область	Кемеровская область	Иркутская область	Омская область	Свердловская область	Челябинская область	Самарская область	Саратовская область	Нижегородская область	Республика Татарстан	Республика Башкортостан
		143,2	11,9 7,0	1,5	2,3	5,3	2,6	5,0 1,7	2,7	2,7	2,4	2,0	4,3	3,5	3,2	2,5	3,3	3,8
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
ПОЧКА																		
Число Центров трансплантации	31	9	1	1	1	1	5	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Количество пациен-тов, включенных в ЛО впервые в течение 2012 г.	1152	574	7	12	72	32	59	48	20	17	20	22	36	53	40	21	65	54
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2012 г.	3276	1094	40	71	156	107	282	116	102	41	65	196	123	210	48	261	174	190
Количество пациентов в ЛО на 31.12.12 г.	2550	767	40	55	97	78	253	76	70	22	52	188	103	170	48	225	159	147
Количество пациен-тов в ЛО, умерших в течение 2012 г.	83	34	0	5	5	7	5	1	0	2	0	5	7	1	0	2	4	5
Количество пациен-тов на диализе на 31.12.12 г.																		
ПЕЧЕНЬ																		
Число Центров трансплантации	13	4	1	0	2	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0
Количество пациен-тов, включенных в ЛО впервые в течение 2012 г.	165	39	6	0	19	0	30	23	0	2	0	23	0	0	0	7	0	16
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2012 г.	488	181	41	0	7	0	71	55	0	2	0	89	7	0	0	76	0	59
Количество пациентов в ЛО на 31.12.12 г.	386	70	39	0	9	0	64	36	0	2	0	59	7	0	0	64	0	36
Количество пациен-тов в ЛО, умерших в течение 2012 г.	58	5	2	0	6	0	10	5	0	0	0	17	0	0	0	6	0	7
СЕРДЦЕ																		
Число Центров трансплантации	9	4	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Количество пациен-тов, включенных в ЛО впервые в течение 2012 г.	193	115	3	0	32	0	17	14	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0

Окончание таблицы 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2012 г.	339	156	12	0	47	0	28	53	0	0	0	43	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО на 31.12.12 г.	168	60	9	0	13	0	9	39	0	0	0	38	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2012 г.	26	8	2	0	2	0	4	7	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
ПОДЖЕЛУДОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА																		
Число Центров трансплантации	4	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2012 г.	42	31	0	0	7	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2012 г.	110	90	0	0	13	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов ЛО на 31.12.12 г.	77	64	0	0	6	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2012 г.	7	3	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ЛЕГКИЕ																		
Число Центров трансплантации	3	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2012 г.	26	22	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2012 г.	42	36	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО на 31.12.12 г.	24	21	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2012 г.	13	10	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
КОМПЛЕКС СЕРДЦЕ-ЛЕГКИЕ																		
Число Центров трансплантации	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2012 г.	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2012 г.	11	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО на 31.12.12 г.	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2012 г.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/demo/prPopul.xls

Таблица 4

Трансплантационная активность центров РФ в 2012 году

Центр трансплантации, регион, федеральный округ	Всего	Почка всего	Почка трупная	Почка родственная	Печень всего	Печень трупная	Печень родственная	Сердце	Поджелудочная железа	Легкие	Комплекс сердце-легкие
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ЦФО	264	124	69	55	72	28	44	61	5		2
ФГБУ «Научно-исследовательский институт урологии» МЗ РФ, Москва, ЦФО	47	47	12	35							
ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва, ЦФО	25	25	25								
ФГБУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского» РАМН, Москва, ЦФО	79	47	23	24	25		25	1	6		
ФГБУ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, ЦФО	35				35	1	34				
ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАМН, Москва, ЦФО	3							3			
ФГБУ «Гематологический научный центр» РАМН, Москва, ЦФО	8	8	8								
ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, Москва, ЦФО	146	85	81	4	36	35	1	11	9	5	
ГБУЗ «Городская клиническая больница № 7» ДЗМ, Москва, ЦФО	43	43	41	2							
ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, ЦФО	47	47	47								
ФГБУЗ «Клиническая больница № 119» ФМБА России, Московская область, ЦФО	11	11	11								
ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, ЦФО	9	6	6		2	2		1			
БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж, ЦФО	11	11	11								
ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	118	61	61		22	22		32	3		
МБУЗ «Городская больница № 2 КМЛДО», Краснодар, ЮФО	1				1	1					
ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский, ЮФО	42	42	38	4							
ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	20	4		4	16	16					
ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	14							14			

Окончание таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	17	17	15	2							
ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, СЗФО	25	25	25								
ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, СЗФО	17	17	17								
СПб ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31», Санкт-Петербург, СЗФО	4	4	4								
ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО	5	5		5							
ФГБУ «Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, СФО	15	8	4	4				7			
ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, СФО	50	36	31	5	14	14					
ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово, СФО	47	47	45	2							
ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, СФО	17	17	16	1							
БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск, СФО	21	21	20	1							
ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, УФО	41	26	24	2	13	13		2			
ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, УФО	13	13	11	2							
ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара, ПФО	40	40	38	2							
ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов, ПФО	8	8		8							
ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, ПФО	40	34	18	16	6	6					
ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, ПФО	23	23	15	8	1	1					
ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, ПФО	37	37	29	8							
ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница», Уфа, ПФО	1	1	1								
МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург, ПФО	1	1		1							
ИТОГО в РФ	1345	941	746	195	243	139	104	132	23	5	2

ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО

В 2012 году донорские программы осуществлялись в 18 регионах РФ (из 83), новых донорских программ организовано не было. Число медицинских организаций, участвующих в донорских программах (донорские базы), в 2012 г. составило 160 и широко варьировало по регионам от 1 до 21.

Число эффективных доноров в 2012 г. снизилось до 412 и составило 2,9 на 1 млн населения, это меньше на 58 доноров (12%), чем в 2011 г. (470) и на 75 доноров (15%), чем в рекордном 2010 г. (487) (табл. 5, 6).

Донорская активность в расчете на численность населения регионов, реализующих донорские программы (63,9 млн), составила 5,9; наиболее высокие показатели донорской активности наблюдались в Кемеровской области (9,6), Москве (9,3), Московской области (8,7), Краснодарском

Таблица 5

Донорская активность в регионах РФ в 2012 году

Регион	Центр координации органного донорства / центр трансплантации, регион	Население, млн	Число донорских баз	Эффективные доноры (абс., на 1 млн населения)		В т. ч. с диагнозом смерть мозга (абс., %)		В т. ч. мультиорганные доноры (абс., %)		Всего заготовлено и пересажено органов		В т. ч. заготовлено и пересажено почек		Коэффициент количество органов / количество доноров	Процент пересаженных почек
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	13	14
Москва	Московский координационный центр органного донорства, Москва (ГБУЗ «Городская клиническая больница № 11» ДЗМ)	11,9	10	111	9,3	76	68,5	55	49,5	319	207	2,9	93,2		
Московская область	ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва; ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва; ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва	7,0	21	61	8,7	40	65,6	36	59,0	165	112	2,7	91,8		
Белгородская область	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород	1,5	4	3	2,0	3	100,0	3	100,0	9	6	3,0	100,0		

I. Органное донорство и трансплантация в РФ в 2012 году

Окончание таблицы 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Воронежская область	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж	2,3	3	6	2,6	6	100,0	0	0,0	11	11	1,8	91,7
Краснодарский край	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	5,3	2	42	7,9	42	100,0	32	76,2	119	61	2,8	72,6
Волгоградская область	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский	2,6	6	19	7,3	9	47,4	0	0,0	38	38	2,0	100,0
Санкт-Петербург	Центр органного и тканевого донорства, Санкт-Петербург (ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе»)	5,0	9	22	4,4	21	95,5	20	90,9	62	41	2,8	93,2
Ленинградская область	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург	1,7	20	10	5,9	10	100,0	10	100,0	29	20	2,9	100,0
Новосибирская область	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	2,7	6	20	7,4	15	75,0	14	70,0	53	34	2,7	85,0
Кемеровская область	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово	2,7	10	26	9,6	4	15,4	2	7,7	47	45	1,8	86,5
Иркутская область	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск	2,4	3	8	3,3	4	50,0	0	0,0	16	16	2,0	100,0
Омская область	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск	2	1	11	5,5	0	0,0	0	0,0	20	20	1,8	90,9
Свердловская область	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург	4,3	4	14	3,3	14	100,0	13	92,9	36	22	2,6	78,6
Челябинская область	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск	3,5	21	7	2,0	7	100,0	1	14,3	15	14	2,1	100,0
Самарская область	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗСР РФ, Самара	3,2	5	19	5,9	7	36,8	0	0,0	38	38	2,0	100,0
Нижегородская область	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород	3,3	18	10	3,0	10	100,0	7	70,0	25	18	2,5	90,0
Республика Татарстан	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	3,8	12	9	2,4	9	100,0	1	11,1	16	15	1,8	83,3
Республика Башкортостан	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа	4,1	5	14	3,4	14	100,0	1	7,1	29	28	2,1	100,0
	ИТОГО	69,3	160	412	5,9	291	70,6	195	47,3	1047	746	2,5	90,5

Таблица 6

**Динамика посмертного донорства (числа эффективных доноров)
в период 2006–2012 гг.**

Регион	2006	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2006–2012
	Абс. число	Число эффективных доноров	Изменение за год, абс.	Число эффективных доноров	Изменение за год, абс.	Число эффективных доноров	Изменение за год, абс.	Число эффективных доноров	Изменение за год, абс.	Число эффективных доноров	Изменение за год, абс.	Число эффективных доноров	Изменение за год, абс.	Изменение за период наблюдения, абс.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Москва	87	126	+39	135	+9	136	+1	151	+15	135	–16	111	–24	+24
Московская область	24	45	+21	59	+14	52	–7	71	+19	82	+11	61	–21	+37
Белгородская область		2	+2	3	+1	2	–1	5	+3	6	+1	3	–3	+1
Воронежская область	6	2	–4	8	+6	2	–6	0	–2	1	+1	6	+5	0
Краснодарский край						3	+3	39	+36	52	+13	42	–10	+42
Волгоградская область	5	0	–5	11	+11	15	+4	16	+1	17	+1	19	+2	+14
Санкт-Петербург	30	45	+15	47	+2	47	0	41	–6	34	–7	22	–12	–8
Ленинградская область	12	8	–4	11	+3	11	0	13	+2	10	–3	10	0	–2
Новосибирская область	17	11	–6	18	+7	29	+11	35	+6	25	–10	20	–4	+4
Кемеровская область	16	13	–3	18	+5	18	0	22	+4	12	–10	26	+14	+10
Иркутская область				4	+4	6	+2	10	+4	9	–1	8	–1	+8
Омская область	10	15	+5	13	–2	19	+6	19	0	14	–5	11	–3	+1
Свердловская область	14	13	–1	12	–1	13	+1	14	+1	15	+1	14	–1	0
Челябинская область								6	+6	2	–4	7	+5	+7
Самарская область	4	17	+13	24	+7	18	–6	20	+2	21	+1	19	–2	+15
Нижегородская область						7	+7	11	+4	12	+1	10	–2	+10
Республика Татарстан		3	+3	1	–2	3	+2	12	+9	16	+4	9	+7	+6
Республика Башкортостан								2	+2	7	+5	14	+7	+14
ИТОГО в РФ	225	300	+75 +33,3%	364	+64 +21,3%	381	+17 +4,7%	487	+106 +27,8%	470	–17 –3,5%	412	–58 –12,3%	+187

крае (7,9), Новосибирской области (7,4), Волгоградской области (7,3). Низкий уровень донорской активности в 2012 г. показали Белгородская область (2,0), Челябинская область (2,0), Республика Татарстан (2,4), Воронежская область (2,6), Нижегородская область (3,0), Иркутская область (3,3), Свердловская область (3,3) и Республика Башкортостан (3,4).

Количество эффективных доноров уменьшилось в 12 регионах. Обращает внимание, что число эффективных доноров уменьшилось и в ведущих регионах, где посмертное донорство органов развивалось в последние годы достаточно успешно: Москва (–24 донора, или –17,8%), Московская область (–21, или –25,6%), Краснодарский край (–10, или –19,2%), Санкт-Петербург (–12, или –35,3%), Новосибирская область (–5, или –20%), Республика Татарстан (–7, или –43,7%).

В 5 регионах количество эффективных доноров увеличилось: в Воронежской области (+5 доноров), Волгоградской области (+2 донора), Кемеровской области (+14, или +116%), Челябинской области (+5 доноров), Республике Башкортостан (+7, или +100%); в Ленинградской области осталось на уровне 2011 г. – 10 эффективных доноров (5,9 на млн населения).

Несмотря на снижение донорской активности, в 2012 году продолжилось расширение практики констатации смерти мозга. Абсолютное число эффективных доноров с диагнозом смерти мозга увеличилось до 291 (в 2011 г. – 283), их доля в общем пуле эффективных доноров составила 70,6% (в 2011 г. – 60,2%) (рис. 2).

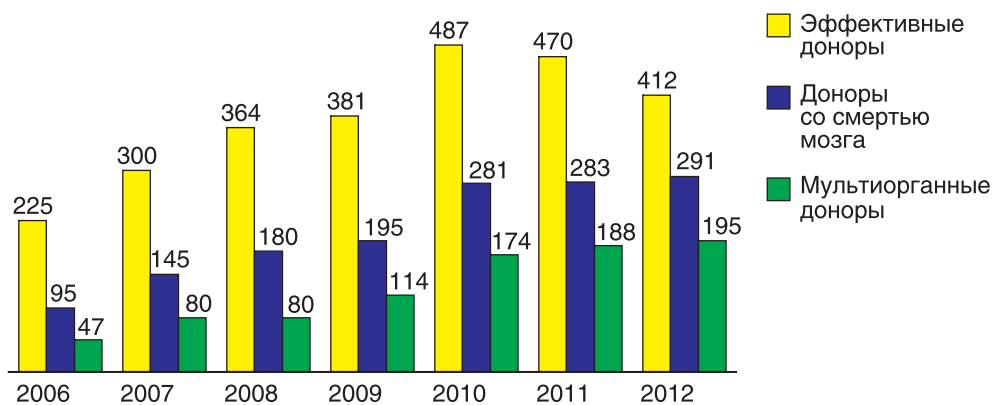


Рис. 2. Структура эффективных доноров органов в РФ в 2006–2012 гг.

По регионам этот показатель широко варьировал от 0 до 100%, при этом 9 донорских программ работали только с донорами с диагнозом смерти мозга (100%) и одна (Омская область) – только по биологической смерти. Расширение практики диагностики смерти мозга имело место

в Москве (+10), Московской области (+10), Новосибирской области (+7), Кемеровской области (+4), Иркутской области (+2).

В 2012 году было выполнено 195 мультиорганных изъятий, что больше, чем в 2011 г. (188); доля мультиорганных изъятий увеличилась до 47,3% (+ 7,3%). Расширение практики мультиорганных изъятий имело место в Москве (+15), Московской области (+8), Белгородской области (+1), Санкт-Петербурге (+1), Новосибирской области (+6), Кемеровской области (+2), Республике Башкортостан (+1).

Среднее количество органов, полученное от одного донора, увеличилось до 2,5 (в 2011 г. – 2,2). Лучшие значения этого показателя наблюдались в регионах, где успешно развивается трансплантация экстраренальных органов – в Москве (2,9) и Московской области (2,7), Краснодарском крае (2,8), Санкт-Петербурге (2,8) и Ленинградской области (2,9), Новосибирской области (2,7), Белгородской области (3,0). Показатель менее 2,0 зафиксирован в Воронежской области (1,8), Кемеровской области (1,8), Омской области (1,8), Республике Татарстан (1,8) – в тех регионах, где трансплантации экстраренальных органов не выполнялись.

В 2012 г. показатель использования донорских почек увеличился до 90,5% от количества изъятых (в 2011 г. – 84,0%). В 14 регионах этот показатель был в диапазоне 90–100%, в трех – между 80–90% и лишь в двух программах составил менее 80% (Краснодарский край – 72,6%, в 2011 г. – 49%; Свердловская область – 78,6%, в 2011 г. – 87%).

В 2012 году число изъятий органов от живых родственных доноров составило 299, или 42% от общего числа изъятий (в 2011 г. – 259, или 35%).

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ

В 2012 году всего была выполнена 941 трансплантация почки (6,6 на 1 млн населения); общее число трансплантаций почки в 2012 г. снизилось по сравнению с 2011 г. (975, или 6,9 на 1 млн населения) и по сравнению с рекордным 2010 г. (1037, или 7,3 на 1 млн населения) (рис. 3).

Число трансплантаций трупной почки уменьшилось до 746 (–50, или –6,3% в сравнении с 2011 г.; –121, или –13,9% в сравнении с 2010 г.).

Число трансплантаций почки от живого родственного донора увеличилось до 195 (179 – в 2011 г., 170 – в 2010 г.), что частично компенсировало снижение.

Активность центров трансплантации почки в 2012 г. традиционно широко варьировала от 1 до 124 операций в год. Только в 3 из 33 центров было выполнено более 50 операций (в 2011 г. – в 7 центрах): в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (124, в 2011 г. – 126), в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (85, в 2011 г. – 85), в ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского (61, в 2011 г. – 51). От 30 до 50 операций за год выполнили 10 центров, еще 8 центров выполнили от 15 до 30 операций, остальные 12 центров – менее 15 трансплантаций почки (рис. 4).

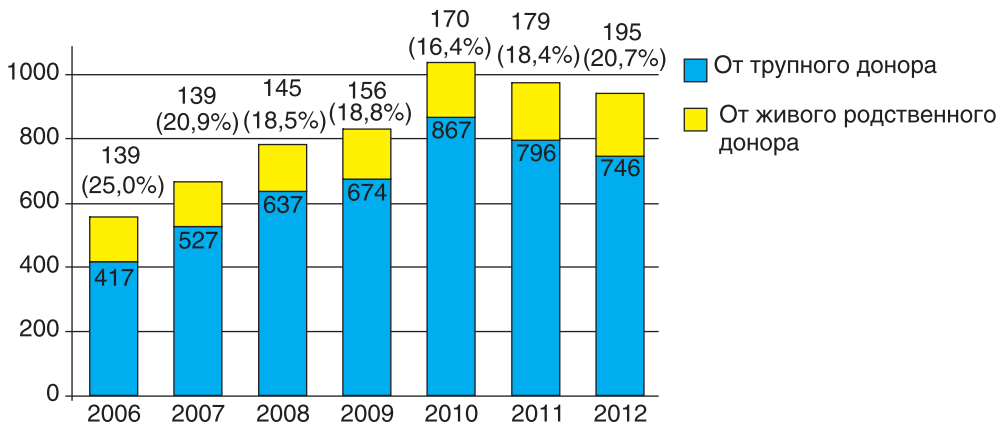


Рис. 3. Трансплантация почки в РФ в 2006–2012 гг.

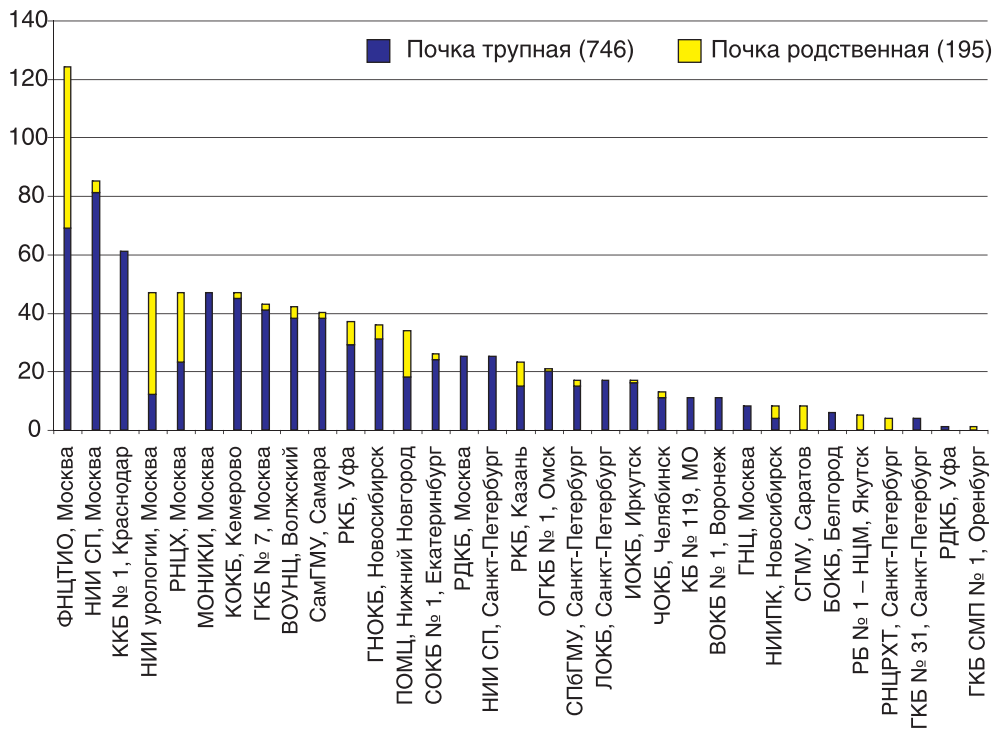


Рис. 4. Трансплантация почки в РФ в 2012 году
(количество операций по центрам трансплантации почки)

В 2012 году 22 центра из 33 выполняли родственные трансплантации почки (в 2011 – 17 из 32), всего было проведено 195 трансплантаций (в 2011 г. – 170), при этом 130 трансплантаций (66,7%) было выполнено в четырех ведущих центрах – ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова, РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского, НИИ урологии, ПОМЦ. Средняя частота использования прижизненного донорства почки в 2012 г. составила 20,7% (в 2011 г. – 18,4%).

Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в 2012 г. выполнялись в 7 центрах, всего было проведено 57 трансплантаций почки, из них 45 (78,9%) в двух центрах – в РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского и в РДКБ, Москва (в 2010 г. – 66, в 2011 г. – 69) (рис. 5).

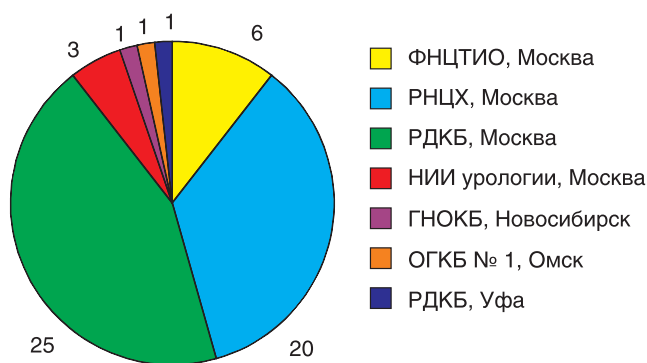


Рис 5. Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в РФ в 2012 году

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЭКСТРАРЕНАЛЬНЫХ ОРГАНОВ

2012 г. был успешным для центров, выполняющих трансплантации экстраренальных органов. Число экстраренальных трансплантаций составило 405 – 30,1% от общего числа трансплантаций (1345), что на 73 (+22%) больше, чем в 2011 г. (332), на 79 (+24%) больше, чем в 2010 г. (326).

В 2012 г. выполнено всего 132 трансплантации сердца (0,9 на 1 млн населения), что на 26 трансплантаций (+24,5%) больше, чем в 2011 г. Трансплантации сердца выполнялись в 9 центрах. На 2 ведущих центра трансплантации – ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова и ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского – приходится 70% (93) от общего числа трансплантаций сердца в РФ, рис. 6.

Число трансплантаций сердца детям (несовершеннолетним) составило 7: в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова – 3; в ККБ № 1 им. проф.

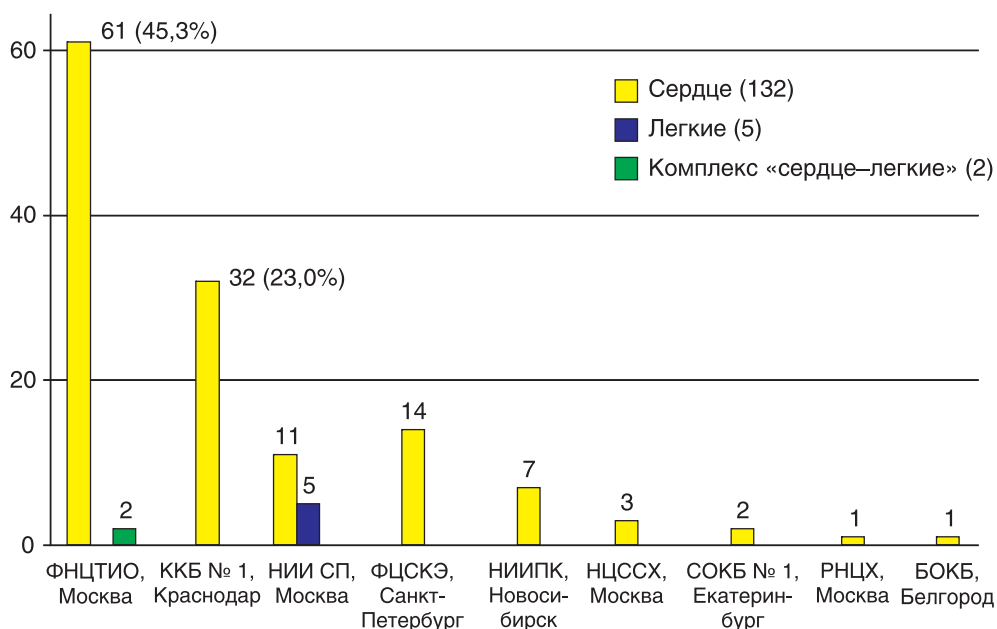


Рис. 6. Трансплантация торакальных органов (сердца, легких, комплекса сердце – легкие) в 2012 году

С.В. Очаповского – 2; в ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова и в НИИПК им. ак. Е.Н. Мешалкина – по 1.

В 2012 г. выполнено всего 243 трансплантации печени (1,7 на 1 млн населения), что на 39 трансплантаций (+19,1%) больше, чем в 2011 г. Трансплантации печени выполнялись в 12 центрах. На 3 ведущих центра – ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова, НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского – приходится 58,8% (143) от общего числа трансплантаций печени в РФ (243); в 2011 г. на эти же центры приходилось 61,3% (125) от общего числа трансплантаций печени в РФ (204), рис. 7.

Родственные трансплантации печени осуществлялись в 4 центрах, доля трансплантаций от живых родственных доноров составила 42,8% (104).

В 2012 г. было выполнено 62 трансплантации печени детям (в основном раннего возраста), из них 60 (96,8%) в двух центрах – в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова и в РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (в 2010 г. – 80, в 2011 г. – 56), рис. 8.

Трансплантации поджелудочной железы осуществлялись в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова, НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского и ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского, всего было выполнено 23 трансплантации, из них 22 – одновременно с трансплантацией почки.

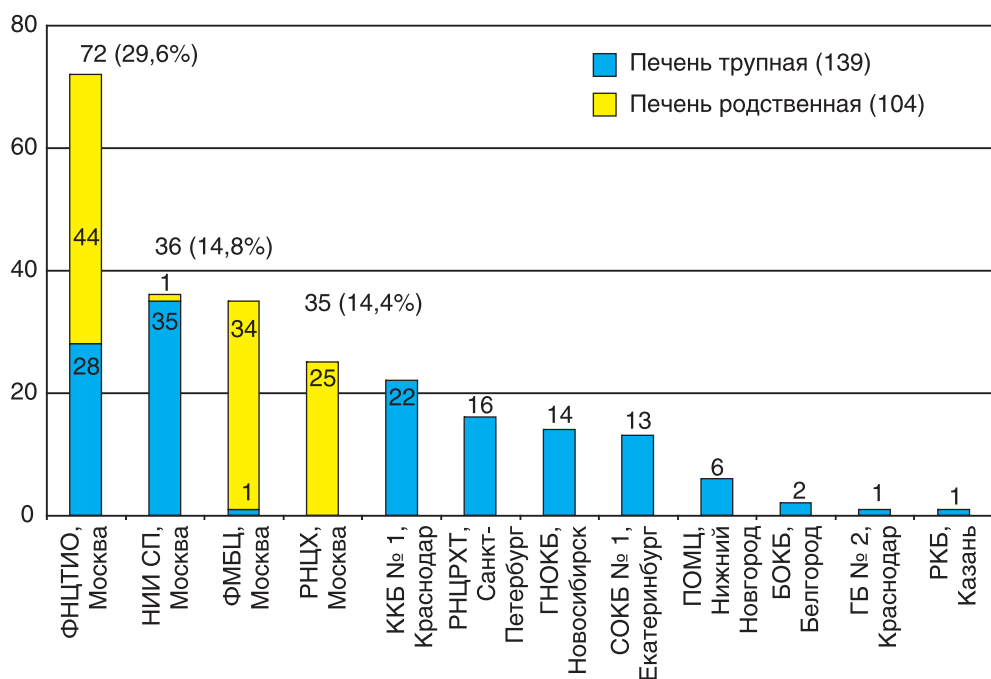


Рис. 7. Трансплантация печени в 2012 году

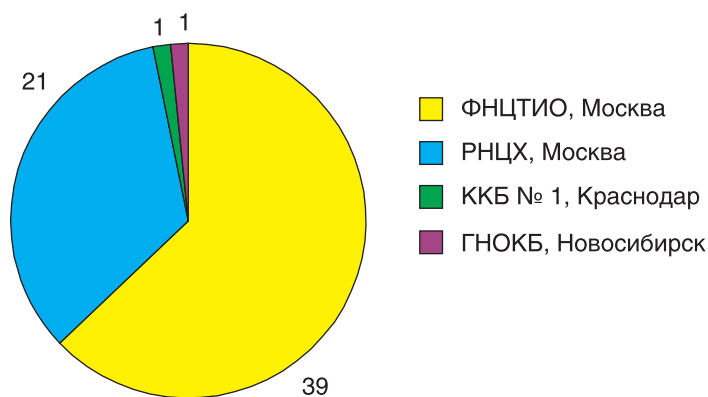


Рис 8. Трансплантация печени детям (несовершеннолетним) в РФ в 2012 году

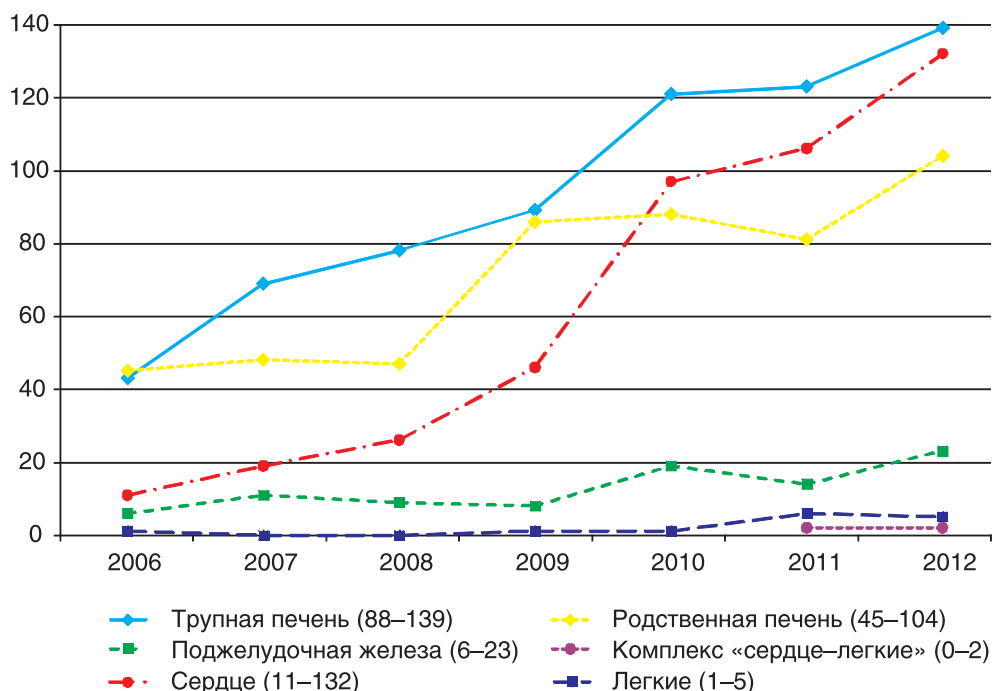


Рис. 9. Трансплантация экстраорганных органов в 2006–2012 гг.

В 2012 г. продолжился рост операций по трансплантации трупной и родственной печени, сердца, динамика числа экстраорганных трансплантаций органов в России за период с 2006-го по 2012 г. приведена на рис. 9.

В табл. 7 представлены данные о динамике числа трансплантаций органов в РФ за 2006–2012 гг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Главным итогом 2012 г. следует считать сохранение уровня трансплантационной активности (1345; 9,4 на 1 млн), несмотря на снижение числа эффективных доноров (412; 2,9 на 1 млн; –12%). Этого удалось достичь благодаря повышению эффективности использования донорского потенциала в ведущих центрах трансплантации, что нашло отражение в росте следующих показателей:

- увеличение абсолютного числа и доли доноров с диагнозом смерти мозга (291; 70,6%);
- увеличение абсолютного числа и доли мультиорганных изъятий (195; 47,3%);

Таблица 7

Трансплантация органов в России в период 2006–2012 гг.

Орган	2006	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2006–2012	
		Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Изменение за период наблюдения, абс.	Изменения за период наблюдения, %
Почка всего, в том числе трупная от живого родственного донора	556	666	+110	782	+116	830	+48	1037	+207	975	-62	941	-34	+385	69,2
	417	527	+110	637	+110	666	+29	867	+201	796	-71	746	-50	+329	78,9
	139	139	0	145	+6	156	+11	170	+14	179	+9	195	+16	+56	40,3
Печень всего, в том числе трупная от живого родственного донора	88	117	+29	125	+8	175	+50	209	+34	204	-5	243	+39	+155	176,1
	43	69	+26	78	+9	89	+11	121	+32	123	+2	139	+16	+96	223,2
	45	48	+3	47	-1	86	+39	88	+2	81	-7	104	+23	+59	131,1
Сердце	11	19	+8	26	+7	46	+20	97	+51	106	+9	132	+26	+121	
Поджелудочная железа	6	11	+5	9	-2	8	-1	19	+11	14	-5	23	+9	+17	
Легкие	1	0	-1	0	0	1	+1	1	0	6	+5	5	-1	+4	
Комплекс «сердце-легкие»										2	+2	2	0	+2	
Всего	662	813	+151	942	+129	1060	+118	1363	+303	1307	-56	1345	+38	+683	
			+22,8%		+15,9%		+12,5%		+28,6%		-4,1%		+2,9%	+103,2%	

- увеличение среднего числа органов, пересаженных от одного эффективного донора (с 2,2 до 2,5).

В 2012 г. возросло число родственных трансплантаций почки (195; 20,7%), что частично компенсировало снижение числа трансплантаций трупных почек.

Прошедший год был достаточно успешным для центров, выполняющих трансплантацию экстраренальных органов, – увеличилось число трансплантаций сердца на 26 (+24,5%) и печени на 39 (+19,1%).

Увеличилось число центров трансплантации, участвующих в выполнении государственного задания на медицинскую помощь по трансплантации органов за счет средств федерального и бюджетов субъектов РФ (софинансирование) – 30 центров (+5 в сравнении с 2011 г.). По программе высокотехнологичной медицинской помощи в 2012 г. было выполнено 1062, или 78,9% трансплантаций органов (+ 16,6% в сравнении с 2011 г.).

Что касается снижения уровня донорской активности в регионах, по нашему мнению, имеет место так называемый человеческий фактор, когда замена главного врача и (или) заведующего отделением реанимации из больницы, участвующей в донорской программе, ведет к остановке работы донорской базы и необходимости заново организовывать взаимодействие.

Ситуация может измениться после формирования новой нормативно-правовой базы, регулирующей медицинскую деятельность больниц (донорских баз), в области посмертного донорства органов.

В 2012 г. в этом направлении были сделаны следующие шаги:

- утвержден Порядок оказания медицинской помощи по профилю «хирургия (трансплантация органов и (или) тканей человека)» (приказ Министерства здравоохранения РФ от 31 октября 2012 г. № 567н);
- утвержден Порядок оказания медицинской помощи взрослому населению по профилю «анестезиология и реаниматология» (приказ Министерства здравоохранения РФ от 15 ноября 2012 г. № 919н);
- утвержден Порядок оказания медицинской помощи больным с острыми нарушениями мозгового кровообращения (приказ Министерства здравоохранения РФ от 15 ноября 2012 г. № 928н).
- издан приказ Департамента здравоохранения г. Москвы от 31 августа 2012 г. № 946 «О дальнейшем совершенствовании организации оказания трансплантологической помощи в г. Москве».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С.* Тенденции развития органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2008 гг. I сообщение (по данным регистра Российского трансплантологического обще-

- ства) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2009. – Т. XI, № 3. – С. 8–16.
2. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2009 году. II сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, № 3. – С. 6–15.
 3. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С.* Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 гг. III сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII, № 2. – С. 6–20.
 4. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 г. IV сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, № 3. – С. 6–18.

**II. ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ
НАСЕЛЕНИЯ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ
ОРГАНОВ, ДОНОРСКОГО
РЕСУРСА И ПЛАНИРОВАНИЕ
ЭФФЕКТИВНОЙ СЕТИ
МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ
(ЦЕНТРОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ)**

ОЦЕНКА ПОТРЕБНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ, ДОНОРСКОГО РЕСУРСА И ПЛАНИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ СЕТИ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ (ЦЕНТРОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ)

Обеспечение населения качественной и доступной медицинской помощью в виде трансплантации органов в соответствии с реальной потребностью и в соответствии с донорским ресурсом, создание для этого эффективной сети медицинских организаций, осуществляющих деятельность в сфере донорства и трансплантации органов, является одной из составляющих концепции развития здравоохранения Российской Федерации.

В работе приводится экспертная оценка потребности населения РФ в медицинской помощи по трансплантации органов и донорского ресурса, на основании которой предлагается концепция развития сети медицинских организаций, осуществляющих деятельность в сфере донорства и трансплантации органов.

ПОТРЕБНОСТЬ НАСЕЛЕНИЯ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ

Ежегодно в России выполняется 1300–1350 трансплантаций органов, в том числе около 1000 трансплантаций почки, 200–240 трансплантаций печени, 100–130 трансплантаций сердца [1–3].

Не вызывает сомнений, что реальная потребность в трансплантации органов значительно выше, но возникает вопрос: каким образом ее рассчитать и спрогнозировать динамику?

Трансплантация органов применяется для лечения целого ряда заболеваний внутренних органов: почек, печени, сердца, легких, поджелудочной железы, тонкого кишечника (табл. 1).

Однако для оценки потребности в трансплантации органов статистические данные о заболеваемости населения (по кодам МКБ-Х) не могут быть использованы, так как трансплантация органов показана лишь на поздних стадиях заболеваний, предполагающих необратимое поражение органов с утратой их функций, код по МКБ-Х стадии заболеваний не учитывает.

Таблица 1

Показания к трансплантации органов (модели пациентов)

Вид трансплантации	Код МКБ-X	Модель пациента
Трансплантация почки	N18.0; N04; T86.1	Терминальная стадия поражения почек. Врожденный нефротический синдром. Отмирание и отторжение трансплантата почки
Трансплантация сердца	I42.0; I25.5; I25.3; I42.8; T86.2	Аневризма сердца. Ишемическая кардиомиопатия. Дилатационная кардиомиопатия. Кардиомиопатия. Другая рестриктивная кардиомиопатия. Другие кардиомиопатии. Отмирание и отторжение трансплантата сердца (сердечная недостаточность III, IV функционального класса (NYHA))
Трансплантация печени	K70.3; K74.3; K74.4; K74.5; K74.6; C22; Q44.2; Q44.5; Q44.6; Q44.7; E80.5; E74.0; T86.4; D13.4	Алкогольный цирроз печени. Первичный билиарный цирроз. Вторичный билиарный цирроз. Билиарный цирроз неуточненный. Другой и неуточненный цирроз печени. Доброкачественное новообразование печени (нерезектабельное). ЗНО печени и внутрипеченочных желчных протоков (нерезектабельные). Атрезия желчных протоков. Другие врожденные аномалии желчных протоков. Кистозная болезнь печени. Другие врожденные аномалии печени. Синдром Криглера–Найяра. Болезни накопления гликогена. Отмирание и отторжение трансплантата печени
Трансплантация поджелудочной железы	E10; T86.8; Q45.0	Инсулинзависимый сахарный диабет. Агенезия, аплазия и гипоплазия поджелудочной железы. Отмирание и отторжение других пересаженных органов и тканей (панкреатопривные состояния неонкологического генеза)
Трансплантация тонкой кишки	K52.8; K63.8; K91.2; Q41; T86.8	Другие уточненные неинфекционные гастроэнтериты и колиты. Другие уточненные болезни кишечника. Нарушение всасывания после хирургического вмешательства, не классифицированное в других рубриках. Врожденные отсутствие, атрезия и стеноз тонкого кишечника. Отмирание и отторжение других пересаженных органов тканей (заболевания кишечника с энтеральной недостаточностью)
Трансплантация легких	J43.9; J84.1; J44.9; J47; J84; J98.4; E84.0; E84.9; I27.0; I28.9; T86.8	Эмфизема неуточненная. Интерстициальная легочная болезнь неуточненная. Хроническая обструктивная легочная болезнь неуточненная. Бронхоэктатическая болезнь (bronхоэктаз). Интерстициальная легочная болезнь неуточненная. Другие интерстициальные легочные болезни. Другие интерстициальные легочные болезни с упоминанием о фиброзе. Другие поражения легкого. Кистозный фиброз с легочными проявлениями. Кистозный фиброз неуточненный. Первичная легочная гипертензия. Болезнь легочных сосудов неуточненная. Отмирание и отторжение других пересаженных органов и тканей (заболевания легких и бронхов с терминальной дыхательной недостаточностью)
Трансплантация сердечно-легочного комплекса	I27.0; I27.8; I27.9; I25.3; Q21.8; T86.3	Первичная легочная гипертензия. Другие уточненные формы легочно-сердечной недостаточности. Легочно-сердечная недостаточность неуточненная. Другие врожденные аномалии сердечной перегородки (синдром Эйзенменгера). Отмирание и отторжение сердечно-легочного трансплантата

Представление о числе пациентов, нуждающихся в трансплантации органов в РФ, можно получить по данным листов ожидания (табл. 2).

Очевидно, что потребность населения РФ в медицинской помощи по трансплантации органов не может быть меньше числа пациентов в листе ожидания на трансплантацию трупных органов медицинских организаций. Вместе с тем число пациентов в листе ожидания центров трансплантации в значительной степени лимитировано их трансплантационной активностью и числом таких центров, а реальная потребность в трансплантации органов значительно выше.

Это становится очевидным при сравнении числа пациентов в листе ожидания центров трансплантации в России и в национальных листах ожидания других стран и численности населения (табл. 3).

По нашей оценке, реальная потребность в трансплантации органов в России составляет в год не менее 11 000 трансплантаций почки, 2000 – печени; 1100 – сердца (включая комплекс «сердце – легкие»); 800 – легких; 300 – поджелудочной железы.

Таким образом, данные о числе пациентов, состоящих в листе ожидания в РФ, не отражают реальной потребности в трансплантации органов и подходят лишь для краткосрочного планирования, например, для планирования ежегодного государственного задания по высокотехнологичной медицинской помощи, в том числе для распределения государственного задания по регионам и центрам трансплантации. Однако они не учитывают скрытую (не выявленную) потребность в трансплантации органов, и поэтому не подходят для целей средне- и долгосрочного планирования.

Более полное представление о числе пациентов, нуждающихся в трансплантации почки в России, дают данные о числе пациентов, состоящих на программном гемо- и перитонеальном диализе.

По данным Российского диализного общества, таких пациентов в стране в 2011 г. было порядка 22 000, в том числе около 6000 пациентов начали лечение в 2011 г. впервые (см. табл. 4 на вклейке).

Из многолетней практики трансплантаций почки установлено, что не менее половины пациентов на диализе не имеют медицинских противопоказаний к трансплантации почки. Как метод лечения трансплантация почки эффективнее, чем диализ, и с позиции клиники (выше качество и продолжительность жизни пациента), и с позиции экономики (стоимость лечения по совокупности затрат).

Таким образом, потребность в трансплантации почки в РФ, рассчитанная по числу пациентов на диализе в 2011 г., может составить не менее 11 000 трансплантаций почки.

Уровень обеспеченности населения диализом в России (153,7 на млн) ниже, чем в других развитых странах (в США – 1283,5 на млн, в Европейском союзе – 640,8 на млн, в Японии – 2379,4 на млн), и с увеличением

Таблица 2

Количество пациентов в листе ожидания в 2012 г.

Вид трансплантации	Общее число пациентов в листе ожидания в течение 2012 г.
Почка	3276
Печень	488
Сердце	339
Поджелудочная железа	110
Легкие	42
Комплекс «сердце–легкие»	11
Всего	4266

Примечание. Данные получены по результатам опроса центров трансплантации, проведенного под эгидой Профильной комиссии по трансплантологии Минздрава России и регистра Российского трансплантологического общества в феврале 2013 г.

Таблица 3

Листы ожидания в России и странах мира в 2011 г.

Вид трансплантации	Россия*	Франция	Германия	Италия	Испания	Велико-британия	Турция	США	Бразилия
Население, млн	143,2	65,1	81,8	60,8	47,2	62,3	74,7	313,1	196,7
Почка	3276	12320	7873	8652	4493	7849	19912	86565	31 549
Печень	488	2462	2119	2272	2172	1330	2733	24 160	3167
Сердце + комплекс «сердце–легкие»	339 +11	798	1039	1143	405	298	387	5675	265
Поджелудочная железа	110	240	282	306	263	525	193	964	103
Легкие	42	325	606	561	478	457	14	3773	194
Всего	4266	16 145	11 919	12 934	7811	10 459	23 239	121 137	35 278

Примечание. * Данные для России представлены за 2012 г.; получены по результатам опроса центров трансплантации, проведенного под эгидой Профильной комиссии по трансплантологии Минздрава России и регистра Российского трансплантологического общества в феврале 2013 г.

числа диализных мест следует прогнозировать увеличение числа потенциальных реципиентов почки.

Например, при достижении в РФ обеспеченности населения диализом на уровне Европейского союза (650 на 1 млн населения) число потенциальных реципиентов почки увеличится с 11 000 до 46 500 (что вдвое меньше, чем в США).

Таким образом, 1300–1350 трансплантаций органов, ежегодно выполняемых в России, обеспечивает лишь 9,0 – 10% от реальной потребности населения. Это обуславливает актуальность проблемы и целесообраз-

ность реализации комплекса государственных мер по развитию органного донорства и трансплантации в стране в целом и в каждом регионе РФ в частности.

ДОНОРСКИЙ РЕСУРС

Основной (помимо экономического) лимитирующий фактор числа трансплантации органов – это ограниченный ресурс донорских органов. Дефицит донорских органов – проблема, актуальная во всем мире. Но если в странах Европы, США, Канады и др. дефицит обусловлен тем, что ресурс потенциальных доноров органов вырабатывается достаточно эффективно, но число нуждающихся пациентов объективно выше, то в России ресурс потенциальных доноров органов используется неэффективно и далеко не реализован. В частности, трансплантация трупных органов (соответственно, посмертное донорство органов) в России осуществляется лишь в 18 регионах (из 83), с населением 69,2 млн человек. На территории 65 регионов с населением 74 млн донорство и трансплантация органов не осуществляется.

Из всей совокупности умерших граждан к ресурсу посмертных доноров органов могут быть отнесены граждане в возрасте 18–60 лет, умершие в условиях отделения реанимации больниц, с изолированным поражением головного мозга травматического, сосудистого и иного генеза, не имеющие медицинских противопоказаний к посмертному донорству органов (инфекционные, онкологические заболевания). Для справки: по данным Росстата, в РФ в 2011 г. смертность в результате ДТП составила 29 342.

На основании данных о числе эффективных доноров в 2010–2012 гг. (412–487) в регионах страны, где выполняются трансплантации трупных органов, можно рассчитать соответствующий показатель на 1 млн населения указанных территорий (всего 18 регионов с населением 69,2 млн). Этот показатель составляет 6–7 доноров на 1 млн населения и в зависимости от конкретного региона широко варьирует – от 0,5 до 10,0 на 1 млн населения. Исходя из этого, число посмертных доноров органов в регионах РФ, в которых трансплантация трупных органов до настоящего времени не осуществлялась (всего 65 регионов с населением 74 млн), в существующих условиях также может составить примерно 6–7 на 1 млн населения.

Мировой опыт показывает, что развитие трансплантационной координации, целевое финансирование донорского обеспечения и другие государственные меры стимулирующего характера способствуют распространению практики посмертного донорства органов. Опыт зарубежных стран доказывает возможность достижения уровня реализации донор-

ского ресурса в 20,0–35,0 посмертных доноров на 1 млн населения, например, во Франции – 25,0; Италии – 21,8; Португалии – 28,1; Испании – 35,3; США 26,0 [4].

При планировании развития органного донорства следует учитывать показатель эффективности использования донорских органов – среднее число донорских органов, пересаженных от одного донора. В 2012 г. этот показатель в РФ был равен 2,5; для сравнения: в США он составляет 4,0–4,2.

На основании данных о численности населения РФ по всем регионам была рассчитана таблица донорского потенциала регионов РФ (см. табл. 5 на вклейке).

Из таблицы следует, что первичным фактором, определяющим ресурс донорства территории, является численность ее населения. Все прочие факторы (смертность от ЧМТ, ОНМК, число реанимационных коек, трансплантационная координация) могут влиять на показатель донорской активности в сторону его увеличения или уменьшения. От уровня донорской активности (числа эффективных доноров) рассчитывается потенциальное количество донорских органов для трансплантации (по среднему количеству органов от одного эффективного донора). Отличие показателя 2,0 (только почки) в сторону увеличения – это число других органов, требующих пересадки (печень, сердце, поджелудочная железа, легкие).

Таблица донорского потенциала регионов РФ может быть использована для определения целевых показателей кратко-, средне- и долгосрочного развития, а также для группировки регионов по перспективности развития трансплантации органов на их территории.

ПЛАНИРОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ СЕТИ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ (ЦЕНТРОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ)

Число центров трансплантации должно быть достаточным для выполнения целевого числа трансплантаций органов (в соответствии с потребностью населения и донорским ресурсом). Распределение центров по территории должно осуществляться таким образом, чтобы обеспечить приемлемую доступность медицинской помощи для всего населения страны.

Считаем, что по общему правилу в каждом субъекте РФ должен работать хотя бы один центр, способный выполнять трансплантацию почки, так как в каждом регионе имеется выявленная потребность в трансплантации почки (пациенты на диализе) и донорский ресурс. Такие центры трансплантации почки целесообразно открывать на базе многопрофиль-

ных стационаров регионального уровня (областные, краевые, республиканские больницы) или федеральных центров высокотехнологичной медицинской помощи.

Организация в регионах выполнения трансплантации трупной почки позволит территориально приблизить данный вид медицинской помощи к нуждающимся пациентам, решить проблему вынужденного переезда пациентов для выполнения трансплантации почки в другие регионы страны, затрат на проживание, получение диализа в период ожидания подходящего трансплантата почки (по срокам – год и более). Кроме того, требовать от регионов участия в донорских программах, если в них не организована трансплантация трупных органов (почки), представляется бесперспективным.

Трансплантация экстраренальных органов имеет ряд особенностей – пациентов, нуждающихся в трансплантации печени, сердца, легких и др., даже в их совокупности значительно меньше, чем пациентов, нуждающихся в трансплантации почки. Если пациент с хронической почечной недостаточностью привязан к амбулаторному диализу, то пациенты с сердечной, печеночной или дыхательной недостаточностью нуждаются в лечении в условиях профильного отделения стационара, в том числе в отделении реанимации и интенсивной терапии.

В связи с этим нецелесообразно создавать центры трансплантации экстраренальных органов в каждом регионе. В первую очередь, выполнение высокотехнологичных операций такого рода может быть сосредоточено в ведущих федеральных центрах (научных и высокотехнологичной медицинской помощи) и дополнительно (по инициативе органов здравоохранения субъектов РФ) – в ведущих медицинских центрах регионального уровня. Донорское обеспечение таких центров должно будет осуществляться с территорий нескольких прилегающих регионов.

Такая организация позволит выполнять экстраренальные трансплантации в ведущих медицинских организациях, обладающих современной материально-технической базой, высококвалифицированными медицинскими кадрами, со стабильным федеральным финансированием, рационально распределить потоки пациентов, нуждающихся в трансплантации экстраренальных органов, по федеральным округам.

По общему правилу, каждый регион должен участвовать в донорских программах. Согласно принципам координации органного донорства выявление потенциальных доноров осуществляется в условиях отделения реанимации больниц, поэтому при планировании следует учитывать число реанимационных коек. Известно, что больницы, участвующие в донорских программах, в среднем выявляют по 1 посмертному донору в расчете на 1 койку реанимационного отделения в год. По нашей оценке с учетом данных Росстата о коечном фонде РФ, число реанимационных

коек, которые могут быть задействованы в работе по выявлению потенциальных доноров, составляет 20 000–25 000, больницы должны быть рационально распределены по всем регионам РФ.

Принимая во внимание разный уровень развития здравоохранения в регионах РФ, разную потребность в трансплантации органов и различный донорский потенциал, предлагается все регионы сгруппировать по критерию перспективности их развития. Для каждой группы могут быть установлены свои целевые показатели и сроки.

Как вариант была выполнена группировка регионов по перспективности развития донорства и трансплантации органов в зависимости от численности населения (см. табл. 6 на вклейке).

Все регионы РФ были сгруппированы в 5 групп:

1) регионы, где не организовано посмертное донорство и трансплантация органов, численность населения которых при уровне донорской активности в 7,5 донора на млн позволяет реализовать 10 и более эффективных доноров;

2) регионы, где не организовано посмертное донорство и трансплантация органов, численность населения которых при уровне донорской активности в 7,5 донора на млн позволяет реализовать 7–10 эффективных доноров;

3) регионы, где не организовано посмертное донорство и трансплантация органов, численность населения которых при уровне донорской активности в 7,5 донора на млн позволяет реализовать 5–7 эффективных доноров;

4) регионы, где не организовано посмертное донорство и трансплантация органов, численность населения которых при уровне донорской активности в 7,5 донора на млн позволяет реализовать менее 5 эффективных доноров;

5) регионы, где организовано посмертное донорство и трансплантация органов.

Из таблицы следует, что в первую очередь следует планировать развитие донорства и трансплантации органов в регионах из 1-й группы, так как их донорский потенциал (от численности населения) наиболее высокий, таких регионов всего 18, численность их населения составляет 37,1 млн (26%). При уровне донорской активности в 7,5 донора на 1 млн с их территорий может быть получено дополнительно 278 эффективных доноров или до 695 донорских органов (2,5 донорского органа с одного донора), в том числе до 139 экстраренальных органов.

Во 2-ю группу вошло 20 регионов с общим населением 22 млн (15,3%). При уровне донорской активности в 7,5 донора на 1 млн с их территорий может быть получено дополнительно 165 эффективных доноров или до 412 донорских органов (2,5 донорского органа с одного донора), в том числе до 82 экстраренальных органов.

В 3-ю группу вошло 11 регионов с населением 9 млн (6,3%). При уровне донорской активности в 7,5 донора на 1 млн с их территорий может быть получено дополнительно 67 эффективных доноров или до 168 донорских органов (2,5 донорского органа с одного донора), в том числе до 33 экстраренальных органов.

Целесообразность развития самостоятельных донорских и трансплантационных программ в регионах из 4-й группы (всего 16, население – 5,7 млн, 4%) вызывает сомнение и требует дополнительного обоснования. Их донорский потенциал при уровне донорской активности в 7,5 донора на 1 млн составляет 42 эффективных донора, до 106 донорских органов, до 21 экстраrenalного органа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы в России складываются благоприятные условия для того, чтобы организовать донорство и трансплантацию органов на уровне лучших зарубежных практик и повысить доступность трансплантаций органов.

1. Ведущими научными и медицинскими центрами страны накоплен клинический опыт по всем видам трансплантации органов. За период с 2006-го по 2012 г. в РФ было выполнено 7500 трансплантаций органов. Клинические результаты сопоставимы с таковыми в ведущих зарубежных клиниках (клинический опыт для тиражирования).
2. В Москве накоплен организационный опыт трансплантационной координации – эффективной системы донорского обеспечения медицинских организаций, выполняющих трансплантации органов, на территории региона (организационный опыт для тиражирования).
3. В регионах РФ число пациентов с хронической почечной недостаточностью, состоящих на программном гемо- и перитонеальном диализе, превышает 22 000, не менее половины из них не имеют медицинских противопоказаний к трансплантации почки (потребность в трансплантации почки по регионам РФ).
4. Современные лекарственные препараты для иммуносупрессии и противовирусной терапии обеспечивают длительные сроки выживания трансплантатов, а их стоимость в России за последние годы снизилась в несколько раз (клиническая и экономическая эффективность метода).
5. Подготовлен проект нового федерального закона «О донорстве органов, частей органов и их трансплантации (пересадке)», который создает правовую базу под развитие трансплантационной координации (современная нормативно-правовая база).
6. Разработаны и утверждены порядки и стандарты медицинской помощи по профилю «трансплантация», ведется разработка клинических рекомендаций (современное методическое обеспечение).

7. Реализованы региональные программы модернизации здравоохранения, в ходе которых отремонтированы здания медицинских организаций, закуплено современное медицинское оборудование, установлены медицинские информационные системы (материально-техническая база для выполнения трансплантаций органов).
8. Ранее реализованы программы строительства федеральных центров высокотехнологичной медицинской помощи, закуплено современное медицинское оборудование, установлены медицинские информационные системы (материально-техническая база для выполнения трансплантаций органов).
9. Значительно возросло финансирование территориальных программ ОМС; финансирование все больше увязывается с реальными затратами медицинских организаций при оказании качественной медицинской помощи по стандартам (финансирование трансплантации почки, в т. ч. по ОМС).

По расчетам, приведенным ранее, еще в 49 регионах страны целесообразно организовать программы донорства и трансплантации органов. Тогда общее количество регионов, участвующих в работах по посмертному донорству и выполняющих трансплантацию органов, составит 67 с населением 137,3 млн (95,9%).

Динамика развития донорства и трансплантации органов может быть разной, так как находится в зависимости от целого ряда факторов (управляемых и неуправляемых) – социально-экономическое развитие страны, финансирование высокотехнологичной медицинской помощи, обновление законодательства, подготовка кадров, общественное мнение и др.

Организация новых программ донорства и трансплантации органов в 49–65 регионах позволит в перспективе 5–7 лет:

- 1) по сценарию консервативного роста (137,3 млн; 7,5 на млн; 2,5 органа с одного донора):
 - увеличить число посмертных доноров до 1030 (+250%);
 - увеличить число трансплантаций трупной почки до 2060 (+274%);
 - увеличить число трансплантаций трупной печени до 260 (+185%);
 - увеличить число трансплантаций торакальных органов (сердце, легкие, комплекс «сердце – легкие») до 260 (+187%);
- 2) по сценарию умеренного роста – предполагает новую законодательную базу, трансплантационную координацию, целевое финансирование донорских программ и др. (137,3 млн; 15,0 на млн; 3,0 органа с одного донора):
 - увеличить число посмертных доноров до 2059 (+500%);
 - увеличить число трансплантаций трупной почки до 4119 (+549%);
 - увеличить число трансплантаций трупной печени до 1029 (+740%);
 - увеличить число трансплантаций торакальных органов (сердце, легкие, комплекс «сердце – легкие») до 1029 (+740%);

3) по сценарию динамичного роста – предполагает новую законодательную базу, трансплантационную координацию, целевое финансирование донорских программ и др. (143,2 млн; 25,0 на млн; 3,5 органа с одного донора):

- увеличить число посмертных доноров до 3580 (+869%);
- увеличить число трансплантаций трупной почки до 7160 (+955%);
- увеличить число трансплантаций трупной печени до 2685 (+1931%);
- увеличить число трансплантаций торакальных органов (сердце, легкие, комплекс «сердце – легкие») до 2685 (+1931%).

Это позволит значительно повысить доступность трансплантации органов для населения РФ, реализовать имеющийся донорский ресурс, эффективно организовать работу медицинских организаций в сфере донорства и трансплантации органов.

И в заключение. Реализация данной концепции не требует сверхзатратных инвестиций в новое строительство медицинских центров, реконструкцию или переоснащение. В работу предлагается включить региональные медицинские учреждения (многопрофильные стационары), прошедшие модернизацию, существующие федеральные центры высокотехнологичной медицинской помощи, при необходимости задействовать санитарную авиацию службы медицины катастроф.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2009 году. II сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, № 3. – С. 6–15.
2. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С. Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 гг. III сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII, № 2. – С. 6–20.
3. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 г. IV сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, № 3. – С. 6–18.
4. International figures on donation and transplantation – 2011 // Newsletter transplant. – September 2012. – Vol. 17, № 1. – P. 33–64.

III. ДОНОРСТВО ОРГАНОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ: ПРАВОВЫЕ, ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ И ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

ДОНОРСТВО ОРГАНОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ: ПРАВОВЫЕ, ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ И ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

*Смертные жизнь принимают одни у других ...
В руки из рук предавая, как в беге, светильники жизни.
Лукреций, I век до н. э.*

Сохранение и умножение населения нашей страны – задача национального масштаба, государственной важности. Трансплантация позволяет излечивать безнадежно больных детей, добиваться полной медицинской и социальной реабилитации работоспособных и активных граждан нашего общества.

Клиническая трансплантология представляет собой комплекс медицинских знаний и навыков, позволяющих использовать трансплантацию органов как метод лечения различных тяжелых заболеваний, не поддающихся излечению другими методами. Необходимыми составляющими работы в области клинической трансплантологии являются: выявление и отбор потенциальных реципиентов донорских органов; выполнение соответствующего хирургического вмешательства; проведение адекватного иммуноподавляющего лечения с целью максимального продления срока жизни трансплантата и реципиента.

Клиническая трансплантология развивается на основе наиболее современных методов диагностики, хирургии, анестезиологии и реанимации, иммунологии, фармакологии и др. В свою очередь, практические нужды клинической трансплантологии стимулируют развитие указанных сфер медицинской науки.

Анализ результатов работы российских трансплантологических центров показывает, что непосредственные и отдаленные результаты выполняемых клинических трансплантаций органов соответствуют международному уровню и свидетельствуют о высокой квалификации кадров, современном методическом уровне и достаточном технологическом обеспечении. Однако объем трансплантологической помощи охватывает лишь незначительную часть жителей нашей страны, нуждающихся в трансплантации различных органов, уступая в десятки раз США и стра-

нам Европы по числу выполненных операций из расчета на 1 млн населения.

Недоступность трансплантаций большинству нуждающихся в них обусловлена прежде всего критическим дефицитом донорских органов.

Пути и перспективы расширения базы донорства органов

Итоги оказания трансплантологической помощи населению Российской Федерации при сравнении с зарубежными показателями со всей очевидностью подтверждают тезис о том, что «донорство органов – ключевая проблема отечественной трансплантологии».

В последние годы отмечаются устойчивые тенденции к увеличению абсолютного числа эффективных трупных доноров в большинстве регионов России и в стране в целом. За последние 5 лет организованы новые донорские программы в Самарской, Белгородской, Иркутской, Нижегородской, Челябинской областях, Краснодарском крае, республиках Башкортостан и Татарстан. Прирост абсолютного числа эффективных доноров в отдельных регионах составил от 0 до 400%, а общее количество увеличилось более чем в 2 раза по сравнению с таковым в 2006 году. В настоящее время в России функционирует 18 региональных программ посмертного донорства.

Несмотря на то что все донорские службы находятся в одинаковых условиях, определенных законодательством Российской Федерации, показатели донорской активности отдельных центров существенно различаются. Например, при общем низком уровне донорства в нашей стране – 3,2 донора на 1 млн населения – в отдельных регионах уровень донорства сопоставим с таковым в развитых странах, например, в Новосибирской области – 16,1 донора на 1 млн населения.

Учитывая, что решение проблемы зависит не только от количественного роста, но и от внедрения инновационных решений, при организации программ органного донорства ставится задача преимущественного использования доноров с констатированной смертью мозга и выполнения мультиорганных изъятий в соответствии с потребностями вновь созданных центров трансплантации. Увеличение частоты констатации смерти мозга обеспечивает возможность увеличения абсолютного числа эффективных доноров в большинстве регионов и в стране в целом, улучшения качества трансплантатов и расширяет возможности трансплантаций не только почки, но и других органов. Наиболее эффективно в этом аспекте работают координационные центры органного донорства в Москве и Санкт-Петербурге.

Выполнение мультиорганных изъятий для получения экстраренальных трансплантатов является важнейшим путем повышения эффективности донорских служб. Доля мультиорганных изъятий возросла с 21% в

2006 году до 36% в 2010 году. Наиболее эффективно доноры со смертью мозга используются там, где функционируют программы трансплантации органов. Так, донорская программа Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова на территории Московской области позволила увеличить средний показатель количества органов, пересаженных от одного донора, до 3,4.

Среди приоритетных направлений в сфере организации донорского обеспечения трансплантологической помощи гражданам РФ необходимо выделить внедрение единой федеральной системы трансплантационной координации, имеющей бюджетное финансирование, главной задачей которой является организация работ по донорству в стационарах регионов и предоставление донорских органов в трансплантационные центры на основе единого федерального листа ожидания.

Необходимо определить порядок функционирования учреждений здравоохранения, в которых осуществляются работы по заготовке донорских органов. В настоящее время задача обеспечения деятельности центров трансплантации решается ими самостоятельно, и только в Москве, Санкт-Петербурге и Новосибирске – независимыми центрами координации органного донорства. Увеличение общего количества трансплантаций происходит в основном за счет постоянного роста количества трансплантаций трупной почки, в то время как программы экстраренальных трансплантаций развиваются пока только в некоторых регионах России.

Дефицит донорских органов в России определяется несовершенной формой организации посмертного органного донорства, не имеющей ничего общего с современными принципами. Действия региональных донорских служб в значительной мере зависят от понимания администрацией регионов и руководством скорпомощных стационаров необходимости развития трансплантологической помощи в регионах. Распоряжения местных органов исполнительной власти в области здравоохранения, призванные регулировать вопросы органного донорства, носят всего лишь рекомендательный характер и не подкреплены федеральным законодательством и ведомственными нормативно-правовыми актами, такими как положения об ответственности руководителей субъектов РФ и главных врачей медицинских организаций за организацию органного донорства. Очевидна необходимость законодательно закрепить эти положения в области организации органного донорства.

Сегодня существует перечень учреждений, осуществляющих трансплантацию органов, и определен порядок их финансирования: федеральные квоты – для федеральных учреждений и совместное финансирование – для региональных. Донорство органов является самостоятельной и организационно не менее трудной задачей, чем трансплантация органов, однако эта сфера деятельности не имеет целевого федерального или регионального финансирования. Организация работ по донорству органов

и трансплантация органов являются разными видами профессиональной деятельности, исполняются разными категориями врачей, в разных производственных помещениях и, соответственно, требуют разных источников оплаты. Если необходимость оплаты государством трансплантаций органов не вызывает сомнения, то проблема адекватного финансирования донорских программ, по сути создания национальной системы донорства, которая имеется в каждой европейской стране, является актуальной и пока еще не решенной задачей.

Рост числа трансплантаций достигнут именно в тех регионах и городах, в которых в организацию работ по органному донорству внедрены элементы трансплантационной координации. Это Москва, Московская область, Санкт-Петербург, Новосибирск. В указанных регионах по инициативе местных властей оплачиваются ключевые этапы госпитальной координации, а именно: идентификация (выявление донора), диагностика смерти мозга, медикаментозная оценка донора, ведение донора, аудит летальности, что обеспечивает интенсификацию и расширение спектра трансплантаций. Следующим шагом должна стать консолидация программ на региональном и национальном уровнях.

Специфика трансплантологии как мультидисциплинарной отрасли клинической медицины требует выработки и внедрения унифицированных подходов к проблеме донорства на всей территории России с эффективным распределением ответственности и обязанностей между всеми участниками процесса (трансплантологи, врачи-реаниматологи, руководители лечебных учреждений, в которых осуществляются работы по органному донорству).

Необходимо признать ключевую роль анестезиологов-реаниматологов в развитии органного донорства. При современном уровне развития отечественного здравоохранения диагностика смерти мозга доступна большинству скоропомощных стационаров, а потому отказ органов управления здравоохранением, администраций лечебно-профилактических учреждений от участия в работе по посмертному органному донорству следует рассматривать как неоказание помощи пациентам, нуждающимся в пересадке органов.

Ближайшие задачи в сфере организации донорства органов

Дефицит донорских органов в современных условиях в нашей стране является следствием недостаточного использования потенциальных донорских резервов. Поэтому очевидна необходимость принятия новых решений в области организации органного донорства в масштабе страны, учитывающих и включающих такие условия перспективного развития:

- совершенствование законодательства в области органного донорства;

- проведение последовательной государственной политики по развитию органного донорства в субъектах Российской Федерации, направленной на обеспечение населения региона трансплантацией почки, а затем и других органов;
- участие учреждений здравоохранения, независимо от их административного подчинения, местных и региональных органов управления здравоохранением в программах посмертного донорства органов;
- целевое финансирование учреждений здравоохранения, участвующих в обеспечении центров трансплантации донорскими органами;
- создание и модернизация инфраструктуры регионального донорства, деятельность которых должна быть направлена на увеличение количества донорских баз и интенсивное их использование (расширение практики констатации смерти мозга и выполнение мультиорганных эксплантаций);
- развитие существующих региональных трансплантационных центров, в том числе освоение пересадки различных органов;
- формирование положительного общественного мнения по отношению к донорству органов и трансплантации.

Нормативно-правовая база донорства и трансплантации органов

Существующая нормативно-правовая база, регламентирующая органное донорство и трансплантацию в нашей стране, соответствует международным правовым актам, действующим в этой сфере. Среди основных международных документов следует назвать:

- Декларацию о трансплантации человеческих органов, принятую 39-й Всемирной медицинской ассамблеей в Мадриде в октябре 1987 г.;
- основополагающие принципы трансплантации органов человека, принятые Всемирной организацией здравоохранения при обсуждении правовых вопросов трансплантологии в Женеве в 1991 г.;
- Дополнительный протокол к Конвенции по правам человека и биомедицине, касающийся трансплантации органов и тканей человека (Страсбург, 24 января 2002 г.).

Важным документом, определяющим этические нормы в области трансплантации и донорства органов, явилась декларация «О трансплантационном туризме и торговле органами». Декларация построена на принципах Всеобщей декларации прав человека. Необходимость такого документа явилась следствием возникающих во всем мире проблем, связанных с т. н. трансплантационным туризмом, когда богатые пациенты-туристы пересекают границы для поиска и покупки донорских органов, а

источником органов является демографический ресурс другого государства, в частности, беднейшие и социально незащищенные группы населения некоторых стран.

Ввиду неотложного характера проблем, вызванных растущим трансплантационным туризмом и незаконным оборотом донорских органов на фоне глобального их дефицита, с 30 апреля по 2 мая 2008 года в Стамбуле состоялась представительная встреча, организованная Международным трансплантологическим обществом и Международным обществом нефрологов – Стамбульский саммит, в котором участвовали более 150 представителей правительственных и медицинских организаций, научных и медицинских сообществ, общественных деятелей, философов и социологов всего мира.

Принятая в ходе Стамбульского саммита Декларация выражает единую точку зрения участников: всем странам необходимы правовая и профессиональная базы для управления процессами донорства и трансплантации органов, а также система надзора, гарантирующая безопасность донора и реципиента, соблюдение стандартов и запрещение деятельности, противоречащей этическим принципам.

Нежелательные действия, противоречащие этике в области трансплантации, могут быть обусловлены, в частности, последствиями глобального дефицита донорских органов. Таким образом, каждая страна должна гарантировать развитие и осуществление программ, предупреждающих дефицит донорских органов, и обеспечивать своим гражданам предоставление донорских органов для трансплантации в пределах своего населения или за счет региональной кооперации.

В нашей стране деятельность медицинских учреждений, связанная с изъятием и трансплантацией органов и тканей человека, осуществляется в строгом соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» № 5487-1 от 22 июля 1993 года, с изменениями от 2 марта 1998 года и Законом Российской Федерации от 22 декабря 1992 года № 4180-1 «О трансплантации органов и (или) тканей человека» (в ред. Федеральных законов: от 20.06.2000 г. № 91-ФЗ, от 16.10.2006 г. № 160-ФЗ, от 09.02.2007 г. № 15-ФЗ).

В 2011 году был принят новый Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (№ 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г.), в котором в отдельной статье – ст. 47 «Донорство органов и тканей человека и их трансплантация (пересадка)» – сформулированы все ключевые правовые нормы донорства органов и трансплантации.

Для совершенствования законодательства в области донорства разработан и готовится к обсуждению и принятию новый Федеральный закон «О донорстве и трансплантации органов и (или) тканей человека», с сохранением в нем презумпции согласия; закреплением механизма

прижизненного волеизъявления лица о согласии (несогласии) на донорство органов и тканей после смерти; закреплением федеральной системы трансплантационной координации; урегулированием создания и ведения федеральных регистров доноров и реципиентов органов и тканей человека, федерального листа ожидания трансплантации трупных органов и тканей человека; указанием отчетности и ответственности администрации скорпомощных стационаров за работы по донорству; урегулированием порядка и процесса констатации смерти мозга у несовершеннолетних и посмертного донорства от несовершеннолетних (презумпция несогласия); запретом торговли органами и тканями человека, трансплантационного туризма, рекламы коммерческих сделок с органами и тканями человека для трансплантации, ответственности за совершение указанных действий; закреплением ограничений на выполнение трупных трансплантаций органов и тканей человека иностранным гражданам, пребывающим на территории РФ; закреплением понятийного аппарата и принципов трансплантации органов и тканей человека и др.

Также законодательно должны быть закреплены порядок медицинского обследования донора-трупа, включая перечень абсолютных и относительных противопоказаний к посмертному донорству органов и тканей человека; протокол ведения донора-трупа с констатированной смертью мозга (кондиционирование); порядок заготовки трупных донорских органов и тканей человека.

Существует ряд приказов, регламентирующих работу по органному донорству, в том числе Приказ МЗ РФ и РАМН № 460 от 20.12.2001, вводящий в действие «Инструкцию по констатации смерти человека на основании диагноза смерти мозга» (зарегистрирован Министерством юстиции РФ, № 3170 от 17.01.2002); Приказ МЗ РФ № 73 от 04.03.2003 (зарегистрирован Минюстом РФ 04.04.2003, № 4379), вводящий в действие «Инструкцию по определению критериев и порядка определения момента смерти человека, прекращения реанимационных мероприятий»; Приказ Минздравсоцразвития Российской Федерации и РАМН от 25.05.2007 г. № 357/ 40 «Об утверждении Перечня органов и (или) тканей человека – объектов трансплантации, Перечня учреждений здравоохранения, осуществляющих трансплантацию органов и (или) тканей человека, и Перечня учреждений здравоохранения, осуществляющих забор и заготовку органов и (или) тканей человека»; Приказ Минздравсоцразвития Российской Федерации от 9 октября 2009 г. № 819н «Порядок оказания медицинской помощи методом трансплантации органов», а также приказы региональных органов управления здравоохранением, регламентирующие порядок оказания трансплантологической помощи и организации органного донорства.

Принцип презумпции согласия

Важно понимать, что в настоящее время отказ от участия в программах донорства органов можно расценивать как неоказание помощи больным.

Презумпция согласия предусматривает возможность изъятия органов и тканей у трупа без согласия родственников и доверенных лиц, если не выражено несогласие.

Изъятие органов и (или) тканей у трупа не допускается, если учреждение здравоохранения на момент изъятия поставлено в известность о том, что при жизни данное лицо либо его близкие родственники или законный представитель заявили о своем несогласии на изъятие его органов и (или) тканей после смерти для трансплантации реципиенту.

В письме Конституционного Суда РФ от 04.12.2003 г № 459-О определена правомочность презумпции согласия, в частности, в нем говорится, что «презумпция согласия базируется, с одной стороны, на признании негуманным задавать родственникам практически одновременно с сообщением о смерти близкого человека либо непосредственно перед операцией или иными мероприятиями лечебного характера вопрос об изъятии его органов (тканей), а с другой стороны – на предположении, обоснованном фактическим состоянием медицины в стране, что на современном этапе развития трансплантологии невозможно обеспечить выяснение воли указанных лиц после кончины человека в сроки, обеспечивающие сохранность трансплантата».

Определяющим фактором при пересадке органов является порядок констатации смерти. Изъятие органов после констатации смерти мозга при работающем сердце донора создает возможность трансплантации сердца, печени, поджелудочной железы, кишечника и других органов. При смерти человека, обусловленной необратимой остановкой сердечной и дыхательной деятельности, изъятие органов производится при неработающем сердце донора, но при этом возможно, как правило, изъятие только почек, наиболее устойчивых к ишемии. Вероятность положительного исхода операции у реципиента в этом случае значительно ниже.

Констатация смерти человека вследствие необратимой остановки сердечной деятельности осуществляется в соответствии с «Инструкцией по определению критериев и порядка определения смерти человека, прекращения реанимационных мероприятий», введенной Приказом Министерства здравоохранения РФ № 73 от 04.03.2003.

Понятие «смерть мозга» было впервые сформулировано французскими невропатологами в 1959 г. В 1966 г. папа римский Пий XII определил понятие «смерть» как отделение души от тела, а не момент остановки сердца.

В 1967 г. в Лондоне была выдвинута концепция мозговой смерти, тогда же в Великобритании впервые был осуществлено изъятие почек у донора

с бьющимся сердцем. Теоретическая и правовая основа, определившая понятие мозговой смерти в США, была принята в 1968 г.

Медицинская и юридическая общественность согласились, что при смерти мозга человека можно считать умершим, даже если сердце его бьется, а дыхание поддерживается искусственно. Таким образом, в практической медицине утвердилось новое понятие «смерть мозга», которое более полно отвечает требованиям современной медицины.

Смерть мозга наступает при полном и необратимом прекращении всех функций головного мозга, регистрируемом при работающем сердце и искусственной вентиляции легких.

Установление диагноза «смерть мозга» является самостоятельной и независимой диагностической процедурой, не связанной с деятельностью трансплантологической службы. То есть к процессу лечения потенциального донора и констатации смерти не допускаются сотрудники службы, потенциально заинтересованной в получении донорских органов с максимальным потенциалом жизнеспособности, а значит, косвенным образом – в постановке указанного диагноза.

Нельзя не остановиться на еще одном важном и с профессиональной, и с этической точки зрения вопросе. Речь идет о лечении (кондиционировании) донора-трупа. Основным документом, регламентирующим диагностику смерти мозга в Российской Федерации, является «Инструкция по констатации смерти человека на основании диагноза смерти мозга», утвержденная Приказом МЗ РФ и РАМН № 460 от 20.12.2001.

После установления смерти мозга и оформления протокола реанимационные мероприятия, включая искусственную вентиляцию легких, могут быть прекращены и к работе с трупом может быть допущена бригада по изъятию органов. В том случае, если немедленное изъятие органов невозможно, проводится комплекс мероприятий, направленных на реабилитацию и поддержание жизнедеятельности внутренних органов – кондиционирование донора.

Ведение потенциального донора органов осуществляется анестезиологами-реаниматологами. Пациент реанимационного отделения с повреждением головного мозга различного генеза с возможным неблагоприятным прогнозом для жизни – это же «потенциальный донор». На этом этапе пациенту проводится весь комплекс показанных ему лечебно-диагностических мероприятий, целью которых является спасение жизни. Все проводимые больному мероприятия фиксируются в установленном порядке в истории болезни пациента. Но при невозможности спасения жизни пациента задачей реаниматолога должно стать сохранение оптимального состояния органов умершего (потенциальный донор).

Кондиционирование донора-трупа – это абсолютно новая область медицины, ранее не известная ни врачам, ни ученым, ни обществу и появившаяся только в последние десятилетия в связи с развитием транс-

плантологии. Интенсивная терапия при кондиционировании направлена на защиту донорских органов от ишемического повреждения и является одним из важнейших компонентов последующей успешной трансплантации.

Донорство органов: от национальной проблемы – к национальному достоянию

В настоящее время трансплантология заняла достойное место в современной медицине и позволяет эффективно лечить чрезвычайно тяжелых больных, которые ранее считались бесперспективными. Трансплантация органов стала обоснованным рутинным методом выбора лечения широкого круга заболеваний с необратимой полной утратой функции того или иного органа. Однако с ростом показаний к трансплантации и ростом числа больных, которым данная операция показана, отмечается постоянное увеличение разрыва между наличием пригодных донорских органов и количеством нуждающихся в спасительных операциях.

Спецификой органного донорства является то, что оно находится на границе жизни и смерти, затрагивая интересы умерших и живых, и требует решения ряда сложных проблем образовательного, морально-этического и юридического характера. Хочется подчеркнуть, что проблема донорства органов связана с решением не только медицинских и организационных задач. Думаю, мы все понимаем, что это проблема всего нашего общества. Необходимо уяснить, что члены общества, являясь потенциальными потребителями трансплантационной помощи, одновременно должны являться и потенциальным источником донорских органов.

При этом необходимо так выстроить систему органного донорства, чтобы обеспечить самодостаточность нашей страны в этой важной области, поскольку ни одна другая страна не обязана предоставлять свой донорский ресурс гражданам России.

Можно сказать, что сегодня наша общая задача состоит в том, чтобы превратить донорство органов для трансплантации из национальной проблемы в национальное достояние. Слова античного поэта Тита Лукреция Кара, взятые эпиграфом к настоящей статье, высечены на памятном камне перед входом в здание Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова. Эти строки как нельзя более точно отражают жизнеутверждающую суть трудного, но гуманного дела – донорства органов для трансплантации. Необходимо укоренить в обществе понимание государственного значения этой проблемы, помочь конкретным людям – нашим согражданам осознать, что трагическая потеря одной жизни может и должна послужить огоньком надежды, средством спасения нескольких других членов нашего общества.

IV. VI ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ

VI ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

24–27 сентября 2012 года в Москве состоялся VI Всероссийский съезд трансплантологов (в соответствии с п. 31 Плана научно-практических мероприятий Министерства здравоохранения Российской Федерации на 2012 год, утвержденного приказом Минздрава России № 90 от 15 августа 2012 года).

В мероприятии приняли участие более 500 ученых, врачей, организаторов здравоохранения, главных внештатных специалистов трансплантологов из большинства регионов России, ведущих российских и зарубежных специалистов в области клинической и экспериментальной трансплантологии, представителей профессиональных медицинских обществ и ассоциаций, индустрии медицинской техники и фармакологических препаратов.

В адрес участников съезда были зачитаны приветствия Председателя Совета Федерации, Министра здравоохранения России. В приветствиях отмечалось, что трансплантология – относительно молодая, но интенсивно развивающаяся область современной медицины, связанная с инновационными технологиями, использующая новейшие достижения во многих областях биомедицины, естественных и точных наук.

В рамках съезда были проведены заседание профильной комиссии по трансплантологии Экспертного совета по здравоохранению Минздрава России, конференция Общероссийской общественной организации трансплантологов «Российское трансплантологическое общество». Состоялось торжественное награждение грамотой Совета Федерации трансплантологов из различных регионов России за выдающийся вклад в развитие отечественной трансплантологии.

Медалью «Академик В.И. Шумаков» награждены президент Всемирного трансплантологического общества Ф.Л. Дельмонико и секретарь Совета Всемирного трансплантологического общества Габриэль Данович. Почетным знаком «Дарящему часть себя» за гуманизм и самопожертвование награждены пациенты, ставшие родственными донорами почки и части печени для своих родных.

С докладом «Состояние и перспективы развития трансплантации органов в Российской Федерации» выступил директор Федерального научно-го центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Минздрава России, главный специалист трансплантолог



На открытии съезда с докладом «Состояние и перспективы развития трансплантации органов в Российской Федерации» выступил академик РАМН С.В. Готье



С лекцией «Трансплантация в мировом сообществе – отражение всеобщей гуманности» выступил президент Всемирного трансплантологического общества Ф.Л. Дельмонико (США)

Минздрава России, председатель Российского трансплантологического общества академик РАМН С.В. Готье.

В работе форума приняли участие лидеры мировой трансплантологии. С лекцией «Трансплантация в мировом сообществе – отражение всеобщей гуманности» выступил президент Всемирного трансплантологического общества Ф.Л. Дельмонико (США), с лекцией «Лечение дисфункции трансплантированной почки» – секретарь Совета Всемирного трансплантологического общества Г. Данович (США).

Насыщенная программа съезда включала 99 лекций и докладов, сделанных ведущими российскими и зарубежными учеными и клинициста-

ми, в которых были освещены актуальные вопросы и новейшие результаты исследований в области трансплантологии и искусственных органов. Программа съезда включала демонстрацию последних достижений отечественной науки и практики в этой новейшей области медицины. На съезде присутствовал житель Москвы, в груди которого уже много месяцев работает «искусственное сердце», созданное отечественными учеными.

Также были представлены пациентка, которой год назад пересажены оба легких и сердце, и пациентка, которая готовится к выписке после аналогичной операции, проведенной 1 сентября 2012 года.



Академик РАМН С.В. Готье с пациенткой, которой год назад были пересажены оба легких и сердце, и пациенткой, которая готовится к выписке после аналогичной операции, проведенной 1 сентября 2012 года.

В рамках съезда прошло Совещание рабочей группы первого много-центрального научно-клинического исследования «БАЗАЛЬТ» (БиоМаркеры в прогнозировании ближайших и отдаленных результатов Трансплантации сердца), организованного Российским трансплантологическим обществом; состоялся симпозиум с участием зарубежных специалистов из Германии, Португалии, Чехии, посвященный вопросам современной иммуносупрессии в мировой практике; пленарное заседание «Научные школы и новые имена».

В рамках «круглого стола» российские специалисты обменялись опытом и обсудили проблемы организации донорства органов в регионах

России; особое внимание было уделено правовым и организационным аспектам органного донорства, регулирующим развитие и реализацию донорства органов и их трансплантацию.

На пленарных и секционных заседаниях заслушаны доклады ведущих российских и зарубежных ученых о достижениях и инновациях, применяемых в трансплантации печени, почек, сердца, в разработке и экспериментальных исследованиях искусственных органов, в анестезиологии и интенсивной терапии, в области регенеративных технологий.

Всероссийский форум показал, что непосредственные результаты выполняемых клинических трансплантаций органов соответствуют международному уровню и свидетельствуют о высокой квалификации кадров, современном методическом уровне и достаточном технологическом обеспечении. И уже сегодня клиническая трансплантология способна решать задачи не только спасения неизлечимых больных, но и их возвращения к полноценной жизни.

Все доклады, представленные на съезде, продемонстрировали высокую научную подготовленность участников. Делегаты съезда выразили уверенность, что полученная ими новейшая научно-практическая информация, приобретенный профессиональный опыт будут способствовать лучшей организации и координации обеспечения населения нашей страны высокопрофессиональной, современной и своевременной трансплантологической помощью.

Съезд стал значимым событием не только в профессиональной, научной, но также и в общественной жизни России. Отрадно отметить, что съезды трансплантологов – знаковые для российской медицины события – широко освещаются в средствах массовой информации.

Наличие большого объема информационных материалов и научной продукции – традиционная особенность съездов трансплантологов. Помимо очередного номера журнала «Вестник трансплантологии» (том XIV, № 3, 2012 год) участники VI съезда получили специальный выпуск Приложения к журналу с 292 тезисами работ и докладов, присланных на съезд и отобранных для публикации. Кроме того, участники съезда получили очередной, III том фундаментального издания «Трансплантология: итоги и перспективы».

В сборнике представлены материалы и документы, отражающие состояние клинической трансплантологии, а также результаты научных исследований по проблеме трансплантологии и искусственных органов по итогам 2011 года. В книге приведен анализ законодательной базы донорства и трансплантации органов в Российской Федерации, а также текст IV сообщения Национального регистра Российского трансплантологического общества. Результаты научных исследований в области трансплантологии и искусственных органов представлены в виде обзоров по материалам отчетов о научно-исследовательских работах, книг и монографий, опубли-

ликованных в 2011 г., авторефератов диссертаций, защищенных в 2011 г. по специальности 14.01.24 «трансплантология и искусственные органы». Приведен перечень диссертационных советов, принимающих к защите диссертации по этой специальности. Отдельные разделы содержат библиографию работ отечественных ученых, опубликованных в 2011 г. за рубежом, список наград и премий, присужденных в 2011 г. отечественным авторам по результатам научных работ по проблеме трансплантологии и искусственных органов, а также календарь основных всероссийских и зарубежных научно-практических мероприятий.

Отдельно следует отметить традиционную и очень важную составляющую съезда – пленарное заседание «Научные школы и новые имена».

Научные школы и новые имена

Стратегия развития медицинской науки Российской Федерации определяет в числе важнейших задач развитие исследований и разработок до соответствующего мирового уровня и интеграцию российской медицинской науки в глобальное научное сообщество; совершенствование уровня фундаментальных и прикладных исследований и развитие научного кадрового потенциала; внедрение разрабатываемых передовых технологий в практическое здравоохранение для обеспечения сохранения и улучшения здоровья населения.

Тенденцией, наметившейся в последние десятилетия в развитых странах, является фактическое стирание временной грани между фундаментальными и прикладными исследованиями. Путь от открытия до практики становится предельно коротким.

Трансплантология представляет собой одну из самых наукоемких и бурно развивающихся областей клинической медицины. Развитие клинической трансплантологии немыслимо без дальнейшей разработки и углубленного решения научных проблем, среди которых биологические и клинические аспекты органной, тканевой и клеточной трансплантации: проблемы преодоления тканевой совместимости, острого и хронического отторжения трансплантата, разработка способов прогнозирования, выявление факторов риска развития хронического отторжения трансплантата; создание отечественного искусственного сердца, искусственных и биогибридных органов и систем и др. Очевидно, что инновационные исследования в области трансплантологии тесно связаны с технологиями регенеративной медицины и разработками в области искусственных органов.

Создание новых направлений в науке, продвижение и реализация их результатов требуют заинтересованного участия молодых специалистов, их энергии, способности нетрадиционно мыслить. Без подготовки врачей и ученых, которые завтра будут определять лицо отечественной науки,

уже сегодня невозможно полноценно решать задачи в области развития биомедицинских исследований и технологий.

Одной из форм работы руководства и коллектива Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова, Российского трансплантологического общества по воспитанию и представлению молодых ученых являются специальные сессии «Научные школы и новые имена», традиционно организуемые в рамках Всероссийских съездов трансплантологов. Два таких заседания с успехом были проведены 27 сентября 2012 года в рамках VI всероссийского съезда трансплантологов. Лидеры научных школ Москвы, Санкт-Петербурга, Новосибирска, Самары, Волгограда, авторитетные ученые представили аудитории и профессиональному сообществу своих учеников, после чего молодые ученые получили возможность изложить результаты своих работ на таком представительном и авторитетном форуме.

Академик РАМН С.В. Готье представил аспиранта Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Минздрава России Д.Г. Ахаладзе, который доложил о результатах исследования, посвященного реваскуляризации левого латерального сектора печени при трансплантации детям.

В рамках пленарного заседания «Научные школы и новые имена» профессор М.А. Карпенко из Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова (Санкт-Петербург) представил свою ученицу – Ю.В. Сазонову, рассказавшую о результатах исследования по трансплантации сердца у пациентки молодого возраста с дилатационной кардиомиопатией и вторичным антифосфолипидным синдромом.

Профессор О.П. Шевченко представила молодого специалиста, врача-педиатра И.Е. Цирульникову, которая доложила о результатах исследования по преодолению барьера АВО-несовместимости при трансплантации печени детям (ФНЦТИО, Москва).

Член-корреспондент РАМН, профессор Д.А. Гранов представил молодого специалиста из Российского научного центра радиологии и хирургических технологий Е.В. Крайсветную (Санкт-Петербург), доложившую о результатах исследований по теме: «Антифибринолитики: оправдано ли использование Эссенского протокола при трансплантации печени?».

Профессор А.М. Чернявский из Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина представил своего ученика А.В. Фомичева, выступившего с докладом «Иммунологическая толерантность реципиента аллотрансплантата – миф или реальность?»

Главный врач Волгоградского областного уронефрологического центра профессор Д.В. Перлин представил молодого ученого В.И. Зипунникова, который познакомил присутствующих с результатами исследований по лапароскопической пластике стриктуры мочеточника трансплантата почки.

Профессор В.И. Севастьянов представил свою ученицу – старшего научного сотрудника В.А. Сургученко, рассказавшую о предварительных результатах исследования по созданию тканеинженерной конструкции хрящевой ткани (ФНЦТИО, Москва).

Профессор А.В. Колсанов из Самарского центра трансплантации органов и тканей представил молодого ученого И.А. Бордовского, который доложил о результатах исследований по применению стволовых клеток при трансплантации почки.

Представленные на сессии работы были направлены на решение разнообразных научных проблем – это и иммунные взаимоотношения трансплантата и реципиента, и сложнейшие хирургические аспекты трансплантации, разработки тканеинженерных конструкций и др. Но все работы отличали общие качества, делавшие честь и участникам, и тем научным школам, которые их представили. Это высокий научный и профессиональный уровень, зрелость и ответственность выступающих, значимость полученных результатов для науки и практики. Именно поэтому было принято решение не выделять лучшие работы: все молодые ученые, представившие доклады, были награждены почетными дипломами.

Съезд трансплантологов – это возможность общения, обмена мнениями с ведущими российскими и зарубежными специалистами. Можно пожелать, чтобы полученная участниками и гостями съезда новейшая научно-практическая информация, приобретенный профессиональный опыт способствовали лучшей организации и координации в развитии общего дела – обеспечения населения нашей страны высокопрофессиональной, современной и своевременной трансплантологической помощью.

**V. СТРАТЕГИЯ РАЗВИТИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
НА ПЕРИОД ДО 2025 ГОДА**

УТВЕРЖДЕНА
распоряжением Правительства
Российской Федерации
от 28 декабря 2012 г. № 2580-р

СТРАТЕГИЯ РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НА ПЕРИОД ДО 2025 ГОДА

I. Цели и задачи Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года

1. Общая характеристика, цели и задачи Стратегии

Стратегия развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года (далее – Стратегия) разработана в соответствии с указами Президента Российской Федерации от 7 июля 2011 г. № 899 «Об утверждении приоритетных направлений развития науки, технологий и техники в Российской Федерации и перечня критических технологий Российской Федерации», от 7 мая 2012 г. № 598 «О совершенствовании государственной политики в сфере здравоохранения» и от 7 мая 2012 г. № 599 «О мерах по реализации государственной политики в области образования и науки», а также Стратегией инновационного развития Российской Федерации на период до 2020 года, утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 8 декабря 2011 г. № 2227-р.

Стратегия основывается на федеральной целевой программе «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы», утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации от 17 октября 2006 г. № 613, комплексном плане мероприятий по реализации Основ политики Российской Федерации в области развития науки и технологий на период до 2020 года и дальнейшую перспективу, утвержденном Председателем Правительства Российской Федерации 20 марта 2012 г. № 1207п-П8, Комплексной программе развития биотех-

нологий в Российской Федерации на период до 2020 года, утвержденной Председателем Правительства Российской Федерации 24 апреля 2012 г. № 1853п-П8, государственной программе Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 2013–2020 годы, а также на Программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы, утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 3 декабря 2012 г. № 2237-р.

В Стратегии учтены положения федеральных законов «О науке и государственной научно-технической политике», «О высшем и послевузовском профессиональном образовании», «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в связи с совершенствованием правового положения государственных (муниципальных) учреждений» и «Об обращении лекарственных средств».

Координатором реализации Стратегии является Министерство здравоохранения Российской Федерации.

Исполнителями Стратегии являются главные распорядители бюджетных средств, государственные корпорации и иные организации, осуществляющие научные медицинские исследования в целях реализации Стратегии.

Участниками мероприятий по реализации Стратегии являются научные и научно-педагогические коллективы, научные и образовательные организации, осуществляющие научную деятельность в области медицины.

Целью Стратегии является развитие медицинской науки, направленное на создание высокотехнологичных инновационных продуктов, обеспечивающих на основе трансфера инновационных технологий в практическое здравоохранение сохранение и укрепление здоровья населения.

Стратегия направлена на реализацию государственной политики в сфере здравоохранения, повышение качества и доступности медицинской помощи населению Российской Федерации, включая разработку инновационной продукции, освоение критически важных технологий и развитие компетенций. Для достижения поставленной цели предусмотрено решение следующих задач:

- развитие медицинской науки и инноваций в сфере здравоохранения;
- развитие сектора медицинских исследований и разработок до мирового уровня и интеграция российской медицинской науки в глобальное научное пространство;
- повышение результативности фундаментальных и прикладных научных исследований, укрепление кадрового научного потенциала;
- развитие механизмов консолидации прав на использование объектов интеллектуальной собственности для вывода на рынок инновационных продуктов и технологий;

развитие системы экспертизы (обоснованного выбора) перспективных и приоритетных направлений, оценки качества и результативности научных исследований;

создание условий для устойчивого спроса на инновационную продукцию и ее внедрения в практическое здравоохранение;

повышение эффективности управления медицинской наукой на основе развития системы стратегического и проектного управления, внедрения программно-целевого метода финансирования и проведения институциональных преобразований;

совершенствование механизмов мотивации научных сотрудников;

дальнейшее развитие международного сотрудничества;

развитие трансляционной медицины.

Стратегия реализуется в соответствии со следующими принципами:

концентрация ресурсов на приоритетных направлениях медицинской науки и внедрение ее результатов в практическое здравоохранение;

интеграция исследовательских и образовательных процессов;

качество и доказательность результатов научных исследований;

персонализация финансирования научных проектов;

независимость экспертизы результатов научных исследований;

развитие научной конкуренции.

2. Мировые тенденции развития медицинской науки

Глобализация экономики, развитие науки и технологий, открытия конца 1990-х – начала 2000-х годов в области исследования генома человека способствовали взрывному росту медицинской науки.

Отличительной чертой современной медицинской науки является развитие молекулярной и клеточной биологии. Молекулярная медицина формирует базис персонализированной медицины, основанной на прогностическом и профилактическом принципах, что позволяет раскрыть потенциальные и адаптационные возможности организма человека и увеличить продолжительность его активной жизни.

На основе интеграции смежных дисциплин развивается биомедицина – одна из важнейших наук о жизни.

Мировой тенденцией развития науки является технологический принцип, предполагающий использование единых научно-методических или аппаратурно-технологических подходов для решения широкого круга задач.

Стирается грань между фундаментальными и прикладными исследованиями. Путь от открытия до практики становится предельно коротким, что стало основой для появления трансляционной медицины.

Усиление влияния социально-экономической среды на жизнедеятельность и здоровье человека, а также технологический прогресс создают

критические нагрузки на человека, его физическое и интеллектуальное состояние. Это требует широкого внедрения эпидемиологических и социологических методов исследования, разработки адаптационных и реабилитационных программ для людей всех возрастов и социальных групп вне зависимости от состояния их здоровья.

Усиливается роль исследований, направленных на развитие и внедрение стратегических и проектно-целевых методов и систем управления качеством в здравоохранении.

3. Современное состояние медицинской науки в Российской Федерации

Одной из приоритетных задач для достижения цели Стратегии является развитие медицинской науки и инноваций в сфере здравоохранения, предполагающее формирование и выполнение научных программ по приоритетным направлениям поддержания здоровья населения и формирования здорового образа жизни, разработке и внедрению технологий профилактики, диагностики, лечения заболеваний и состояний и медицинской реабилитации.

В медицинской науке активно внедряются программно-целевое финансирование научных исследований, современные компьютерные технологии обработки и анализа результатов научных исследований, а также международные кооперативные исследовательские программы.

Развивается неинвазивная диагностика на основе биотехнологических методов. Это позволяет достоверно поставить диагноз пациенту любого возраста и в любом состоянии.

Разработаны высокотехнологичные комплексные методы лечения новорожденных, в том числе недоношенных, и детей 1-го года жизни с врожденными пороками развития, включая гибридные методы лечения и экстренной помощи в критических ситуациях.

Развиваются клеточные и нейрокогнитивные технологии, геномные и протеомные исследования.

В структуре Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федерального медико-биологического агентства, Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Российской академии медицинских наук существуют 214 подведомственных научных организаций и 6672 научных коллектива. Однако только 225 лабораторий проводят исследования мирового уровня и 431 лаборатория – национального уровня.

По общему числу ученых Россия занимает лидирующее положение и находится на 4-м месте после Китая, США и Японии. При этом число молодых ученых не превышает 25 процентов. По уровню финансирования научных исследований Россия занимает 9-е место в мире. По числу научных публикаций – находится на 15–18-м месте. По уровню цитирования

публикаций – за списком из 20 ведущих стран. В медицинской науке России наблюдаются те же тенденции.

Практически отсутствует система оценки перспективности патентов, зарубежного патентования и управления правами на результаты интеллектуальной деятельности.

Разобщенность медицинской науки снижает эффективность научных исследований. Одноплановые работы могут выполняться в учреждениях Министерства здравоохранения Российской Федерации, Министерства образования и науки Российской Федерации, Российской академии медицинских наук, Российской академии наук и Федерального медико-биологического агентства, деятельность которых в сфере медицинских исследований не координируется. Профиль научных организаций часто не соответствует основным мировым трендам развития медицинской науки, не существует приоритетов в постановке научных задач, отсутствуют инновационные цепочки «идея – лаборатория – производитель – клиника».

Следует отметить низкую структурную эффективность медицинской науки. Большинство учреждений не соответствуют требованиям надлежащей лабораторной практики, надлежащей клинической практики и испытаний инновационных препаратов с использованием моделей патологических процессов на животных. Научно-исследовательские институты недостаточно разрабатывают кандидатные молекулы, мишени и способы доставки лекарственных препаратов. Недостаточно сертифицированных центров доклинических испытаний новых лекарственных препаратов.

Медицинская наука остается зависимой от импорта. При этом в силу высоких таможенных сборов и транспортных расходов цены на приборы и реактивы выше в 1,5–1,8 раза, чем в США и Европейском союзе.

Из-за низкого уровня заработной платы только 9 процентов россиян считают профессию ученого престижной (в США 51 процент населения назвали профессию ученого в высшей степени престижной, 25 процентов – весьма престижной и 20 процентов – престижной).

Отсутствует эффективный механизм отбора и передачи результатов фундаментальных исследований, переходящих на стадию прикладных работ для получения опытных образцов инновационных продуктов, а также технологий для их создания.

Отсутствуют механизмы коммуникации представителей практического здравоохранения с научными работниками в части доведения информации о проблемах и неудовлетворенных потребностях в новых методах профилактики, диагностики, лечения заболеваний и состояний, медицинской реабилитации.

Медицинская наука остается неконкурентоспособной, непривлекательной для инвестиций, с высокими барьерами к внедрению инновационных разработок.

Для решения этих проблем предлагаются меры по реорганизации медицинской науки, развитию трансляционной и доказательной медицины.

Для повышения конкурентоспособности и инвестиционной привлекательности российской медицинской науки необходимо поддерживать приоритетные направления. Основными направлениями станут геномика, протеомика и эпигеномика, биоинформатика, системная биология, нанобиотехнологии, клеточные технологии, фармакогенетика, персонализированная медицина и ряд других. Особое место должно быть отведено междисциплинарным научным исследованиям, выполняющимся на стыке наук.

Задачами развития становятся повышение результативности, улучшение научно-методической подготовки специалистов, повышение качественного уровня научных публикаций и создание системы инновационных потоков на принципах трансляционной медицины, то есть быстрого доведения результатов научных исследований до медицинского продукта – лекарственного средства, прибора и тест-системы.

Для выполнения этих задач требуется сбалансировать между собой целевые установки, интеллектуальный потенциал и ресурсное обеспечение медицинской науки, необходимо выявить неэффективные организации с последующим их перепрофилированием и объединением. Требуется развить инфраструктуру организаций науки, создать биобанки, биоколлекции, центры доклинических исследований, биоинформатики, а также центр стратегических биомедицинских технологий и биобезопасности. Следует развивать проектный метод управления научными исследованиями, а также активно использовать управленческий консалтинг при подготовке проектов.

Это позволит сконцентрировать ресурсы на решении актуальных задач медицинской науки, сформировать научные платформы по основным направлениям медицины и центры лидерства в стратегически важных и приоритетных областях медицинской науки.

II. Приоритетные направления развития медицинской науки в Российской Федерации

Управление медицинскими исследованиями будет осуществляться на основе сформированных научных платформ.

Научной платформой является интегрированная программа исследований по приоритетным направлениям и критическим технологиям развития медицинской науки, направленная на создание инновационных продуктов и технологий, реализуемая ведущими научными коллективами и исследователями.

После широкого обсуждения ведущими учеными и специалистами Министерства здравоохранения Российской Федерации, Министерства

образования и науки Российской Федерации, Российской академии медицинских наук, Российской академии наук, Федерального медико-биологического агентства и медицинских вузов определено 14 научных платформ: кардиология и ангиология, неврология, эндокринология, педиатрия, психиатрия и зависимости, иммунология, микробиология, фармакология, профилактическая среда, репродуктивное здоровье, регенеративная медицина, инвазивные технологии и инновационные фундаментальные технологии в медицине.

В рамках выполнения задач развития научных платформ участники реализации мероприятий Стратегии формируют и актуализируют тематики исследований, выполняют информационную и экспертную функции, готовят технологические дорожные карты для планирования разработки конкретных технологий и продуктов, формируют приоритеты и координируют реализацию научно-технических проектов. Дорожные карты научных платформ, детализированные до проектов и продуктов, станут основой для формирования государственных заданий государственным учреждениям, а также для программно-целевого финансирования науки.

В процессе реализации Стратегии предполагается вносить на основе широкого обсуждения с научной общественностью изменения в механизмы научных платформ.

Реализация программ научных платформ позволит сконцентрировать финансовые и организационные усилия на исследованиях, обеспечивающих максимальный эффект в среднесрочной и долгосрочной перспективе. Координацию деятельности научных коллективов, поиск и создание недостающих компетенций, анализ тенденций развития научной платформы должны осуществлять головные институты – центры лидерства.

III. Организационное и правовое обеспечение Стратегии

4. Межведомственная координация медицинской науки

С целью межведомственной координации необходимо сформировать межведомственный совет по медицинской науке, в состав которого войдут представители федеральных органов исполнительной власти, государственных академий наук и научных и образовательных организаций. Министерство здравоохранения Российской Федерации выступает как координатор этого совета.

Деятельность межведомственного совета по медицинской науке должна быть направлена на обеспечение эффективного взаимодействия федеральных органов исполнительной власти и соответствующих организаций в целях реализации Стратегии, повышение эффективности расходования бюджетных средств, разработку единых критериев экспертного отбора проектов, методологических подходов к созданию баз данных по финан-

сируемым и реализуемым проектам, формирование консолидированного сообщества экспертов, а также на создание полного цикла инновационного процесса.

Задачей межведомственного совета по медицинской науке будет рассмотрение и согласование ведомственных планов реализации Стратегии, которые координируются между собой по мероприятиям и этапам реализации и учитывают мероприятия, осуществляемые в рамках технологических платформ «Медицина будущего», «Биоиндустрия и биоресурсы «БиоТех2030», «Биоэнергетика» и других технологических платформ в сфере медицины.

Мероприятия ведомственных планов реализации Стратегии должны учитываться исполнителями Стратегии при формировании государственного задания подведомственным федеральным органам исполнительной власти учреждениям.

В целях реализации Стратегии планируется разработать программу мероприятий по развитию медицинской науки. Разработка и реализация указанной программы мероприятий должны обеспечить консолидацию новых компетенций в области медицинской науки, вывод на рынок инновационных продуктов.

5. Финансовое обеспечение медицинской науки

Финансовое обеспечение мероприятий Стратегии за счет средств федерального бюджета предусматривается осуществлять в рамках государственных программ Российской Федерации «Развитие здравоохранения» на 2013–2020 годы, «Развитие образования» на 2013–2020 годы, «Развитие науки и технологий» и «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 2013–2020 годы.

Финансовое обеспечение фундаментальных и поисковых исследований необходимо осуществлять в соответствии с государственными заданиями, утверждаемыми федеральными органами исполнительной власти, соответствующим подведомственным учреждениям, а также с использованием механизмов грантовой поддержки в научно-технической сфере.

Государственные задания планируется разрабатывать на основе ведомственных планов, сформированных с учетом дорожных карт научных платформ. Научные организации и высшие учебные заведения могут участвовать в реализации нескольких научных платформ.

Критериями результативности ориентированных фундаментальных и поисковых исследований являются показатели публикационной активности и значимости публикаций (импакт-фактор журнала, цитируемость автора статьи, индекс Хирша).

Проведение прикладных исследований, ориентированных на создание полезных моделей, макетов, экспериментальных образцов и клинических исследований, необходимо осуществлять с использованием механизмов

целевого финансирования в рамках программы мероприятий по развитию медицинской науки, проектов институтов развития, государственных корпораций, а также в рамках государственно-частного партнерства.

Необходимо обеспечить условия, при которых по мере продвижения от ориентированного фундаментального исследования к конечному продукту доля государства в финансировании будет снижаться, тогда как доля частного капитала и финансирования из иных внебюджетных источников – увеличиваться.

6. Администрирование и коммерциализация интеллектуальной собственности в медицинской науке

Необходимо создание условий для эффективной защиты прав на результаты интеллектуальной деятельности, в том числе зарубежного патентования российских разработок на основе формирования патентной службы в научных организациях, реализующих Стратегию, единой базы данных новых разработок и патентов, а также отработки механизмов целевого финансирования патентования российских разработок за рубежом.

Необходима отработка механизмов консолидации прав пользования результатами интеллектуальной деятельности для вывода на рынок инновационных продуктов и технологий, включая независимую оценку рыночной стоимости объектов интеллектуальной собственности в медицинской науке, выкупа, консолидации и отчуждения прав пользования. При этом государство должно иметь возможность влиять на формы и способы использования интеллектуальной собственности. Необходимо внесение изменений в нормативно-правовое регулирование этой сферы.

Планируется создать условия, при которых научные организации, разработавшие и запатентовавшие инновационные продукты, заинтересованы в создании малых инновационных предприятий. Малые инновационные предприятия опираются прежде всего на интеллектуальную собственность, созданную в организации в результате выполнения научных работ.

Предусматривается обеспечение включения инновационных продуктов в клинические протоколы и стандарты медицинской помощи, а также отработка механизмов долгосрочных государственных гарантий закупок инновационных продуктов с использованием особого механизма в соответствии с Федеральным законом «О закупках товаров, работ, услуг отдельными видами юридических лиц».

В целях коммерциализации разработок с ранних этапов их реализации и на всем протяжении инновационного цикла необходимо создавать условия для формирования центров трансфера технологий, сервисных организаций в сфере медицинской науки, проектных компаний в сфере инновационной деятельности и инвестиционных компаний.

7. Совершенствование правового регулирования медицинской науки

Научные достижения в новых областях медицины приводят к появлению продуктов и технологий, требующих разработки новых принципов контроля безопасности, эффективности, качества и требований к обороту инновационных продуктов.

Стимулирование инновационного процесса предполагает устранение преград в развитии новых отраслей биомедицины и создание условий для ускоренного внедрения передовых научно-технических разработок в практическое здравоохранение. Оптимизация процедур государственной регистрации лекарственных препаратов, медицинских изделий при обязательном обеспечении безопасности, эффективности и качества инновационных продуктов требует постоянного совершенствования нормативной правовой базы.

Отсутствие соответствующего нормативного регулирования является тормозом развития наиболее динамичных областей медицинской науки.

К первоочередным нормативным правовым актам, регулирующим оборот инновационных продуктов и требующим разработки, относятся проекты федеральных законов об обращении биомедицинских клеточных продуктов, обращении тканевых медицинских продуктов и о биомедицинской этике.

IV. Институциональные преобразования в медицинской науке

Инновационное развитие здравоохранения невозможно без институциональных преобразований, повышения эффективности научных и образовательных организаций, устранения межведомственной разобщенности и развития научных школ в ведущих медицинских вузах.

8. Повышение структурной эффективности медицинской науки и формирование центров лидерства

Целью планируемых преобразований является формирование единого научного пространства медицинской науки с взаимодополняющими компетенциями научных коллективов, развитием инфраструктуры и развитием технологий трансляционной медицины, охватывающей всю инновационную цепочку от лаборатории до клиники.

Такие преобразования должны создать взаимосвязь между состоянием здоровья нации, проводимыми научно-исследовательскими работами и предоставлением населению качественной доступной медицинской помощи.

Реструктуризацию организаций медицинской науки целесообразно осуществлять в рамках научных платформ, а также перспективных планов развития этих организаций.

Необходимо определить, какой круг научных организаций требуется для выполнения стратегических функций лидерства в отечественной науке и поддержания необходимой степени эффективности научного потенциала страны.

На основании оценки результативности деятельности научных организаций планируется сформировать программы дальнейшего развития лидирующих и стабильных научных организаций, а также мероприятия по реорганизации или ликвидации неэффективных научных организаций.

Средства, сэкономленные за счет сокращения неэффективных организаций и подразделений, необходимо направить на развитие и расширение деятельности более результативных организаций.

Предполагается технологическое обновление научной инфраструктуры, в частности создание сети центров доклинической и трансляционной медицины, сертифицированных вивариев, банков биологического материала и чистых клеточных линий и центров биоинформатики.

Необходимо формирование системы центров лидерства по приоритетным направлениям, то есть закрепление за лидирующими научными организациями функций по методологическому сопровождению исследовательских проектов.

Необходимо мотивировать инициирование создания исследовательских групп на базе нескольких ведущих научных организаций или лабораторий, способных к генерации и реализации междисциплинарных исследований.

Необходимо внедрение методов стратегического и проектного управления.

В целях обмена актуальной научной информацией, формирования единого интеллектуального пространства в области научных медицинских исследований, стимулирования научной кооперации, обсуждения проблем и результатов выполнения мероприятий Стратегии, а также в целях доступа к электронным библиотекам в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» планируется создание информационного портала «Медицинская наука».

9. Формирование научно-образовательных медицинских кластеров

Планируется обеспечить дальнейшее формирование научно-образовательных кластеров, объединяющих научно-исследовательские лаборатории, факультеты и кафедры ведущих вузов страны, клиники научно-исследовательских центров и вузов, инновационные предприятия различных форм собственности. Прежде всего кластеры предусматривается формировать с участием национальных исследовательских университетов.

В рамках формирования кластеров необходимо продолжить создание вузами кафедр на базе учреждений науки.

Формирование и развитие научных объединений, в том числе кластерного типа, возможно в ходе реализации комплексных междисциплинарных проектов, направленных на решение крупных научных или практических проблем.

10. Формирование инновационной инфраструктуры медицинской науки

Для формирования обеспечивающей инновационное развитие инфраструктуры необходимо создание на базе уже имеющихся научных и образовательных организаций центров доклинических трансляционных исследований, центров биоинформатики, высокотехнологичных центров коллективного пользования на базе ведущих высших учебных заведений и научных организаций, а также центра инновационного обучения и национального центра стратегических биомедицинских технологий и биобезопасности.

Результатами реализации направлений по развитию обеспечивающей инфраструктуры научных исследований станет повышение результативности исследований, качественное повышение оснащенности и технической вооруженности организаций, осуществляющих научную деятельность в сфере здравоохранения, а также разработка новых образовательных программ в целях инновационного развития здравоохранения.

Для стандартизации исследований и проведения качественных научно-исследовательских работ лаборатории научных организаций и научно-клинических центров планируется модернизировать в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной и клинической практики.

Предусматривается обеспечить доступ научных организаций к электронным библиотекам и профильным научным журналам, включая зарубежные.

11. Развитие кадрового потенциала медицинской науки

Стратегическими задачами развития кадрового потенциала медицинской науки являются создание условий для эффективного воспроизводства научных и научно-педагогических кадров и закрепления молодежи в сфере науки, образования и высоких технологий, сохранение преемственности поколений, выявление талантливой молодежи на всех этапах обучения, обеспечение развития научных школ и сохранение накопленного потенциала.

В соответствии с Указом Президента Российской Федерации от 7 мая 2012 г. № 597 «О мероприятиях по реализации государственной социальной политики» планируется повысить к 2018 году среднюю заработную

плату врачей, преподавателей образовательных учреждений высшего профессионального образования и научных сотрудников до 200 процентов средней заработной платы в соответствующем регионе с использованием механизма эффективного контракта.

Предусматривается разработать и реализовать специальные программы обучения студентов медицинских вузов технологическим методам научных биомедицинских исследований, принципам доказательной медицины, методам обработки научной информации и др.

В целях поддержки карьерного роста одаренных научных работников необходимо обеспечить привлечение бизнес-сообщества для поддержки исследований молодых ученых и преподавателей, учреждение именных стипендий, создание перспектив профессионального роста и улучшения материального положения.

Планируется расширить программы зарубежных стажировок российских исследователей, участия молодых ученых в международных научно-исследовательских проектах и привлечения зарубежных исследователей к участию в российских научных проектах.

Предусматривается создать условия для разумной конкуренции между ведущими учеными и научными коллективами, включая меры по развитию контроля адекватности проведения исследований и объективной оценки результатов научной деятельности, а также по развитию системы ротации кадров.

Повышению кадрового потенциала российской медицины способствует организация на базе научных организаций лабораторий с участием иностранных партнеров.

V. Основные результаты реализации Стратегии

Реализация Стратегии способствует:

- созданию сбалансированного, устойчиво развивающегося в научном пространстве Российской Федерации сектора научных медицинских исследований и инновационных разработок, обеспечивающего расширенное воспроизводство медицинских знаний, конкурентоспособного на мировом рынке и активно взаимодействующего с практическим здравоохранением;

- формированию непрерывного цикла внедрения в здравоохранение результатов фундаментальных и прикладных исследований;

- повышению инвестиционной привлекательности российских патентов в сфере медицинской науки;

- созданию механизма поддержки международного сотрудничества в области ориентированных фундаментальных и прикладных медицинских исследований, в том числе через организацию проектов, лабораторий и центров, с участием иностранных партнеров;

созданию механизмов включения новых лекарственных препаратов, биомедицинских клеточных продуктов и медицинских изделий в стандарты медицинской помощи;

созданию эффективных механизмов анализа, учета, управления и вовлечения в хозяйственный оборот результатов интеллектуальной деятельности в области медицинской науки;

созданию механизмов поддержки патентования, регистрации и продвижения новых российских разработок на международный рынок;

созданию механизмов поддержки российских производителей инновационной продукции и обеспечению возможности использования новых зарегистрированных лекарственных препаратов и продуктов в практике здравоохранения;

укреплению кадрового потенциала медицинской науки и закреплению научной молодежи в научных организациях;

повышению рейтинга Российской Федерации в глобальном рейтинге «Науки о жизни».

В результате реализации Стратегии произойдет интеграция национального сектора медицинских исследований в соответствующий сектор глобальной науки, что приведет к увеличению числа национальных публикаций по медицине, индексируемых в международных библиометрических базах данных.

12. Этапы и сроки реализации Стратегии

В реализации Стратегии выделены следующие этапы:

первый этап (инфраструктурный) – 2013–2016 годы;

второй этап (интеграционный) – 2017–2020 годы;

третий этап (масштабирование инновационной деятельности) – 2021–2025 годы.

На первом этапе планируется сформировать научные платформы по приоритетным направлениям медицинской науки и нормативную правовую базу, необходимую для достижения запланированных результатов и индикаторов, разработать ведомственные планы реализации Стратегии, программу мероприятий по развитию медицинской науки и классификатор тематик научных исследований в медицине, уточнить государственные задания для учреждений, подведомственных соответствующим федеральным органам исполнительной власти, создать межведомственный совет по медицинской науке, а также учесть особенности администрирования интеллектуальной собственности в медицинской науке.

Планируется проведение аудита научных организаций, результаты которого станут основой для их укрупнения и профилирования в рамках научных платформ и определения центров лидерства (головных институтов), по результатам которого начнется модернизация инфраструктуры медицинской науки и выполнение указанными учреждениями ори-

ентированных фундаментальных исследований в рамках бюджетного финансирования на основе государственного задания, в соответствии с приоритетами научных платформ, а также проведение доклинических и клинических исследований инновационных продуктов с использованием программно-целевого финансирования. Планируется создание условий для коммерциализации ранних этапов инновационных разработок, а также конечных результатов на всем протяжении инновационного цикла.

Предусматривается формирование научно-образовательных кластеров и расширение кооперации научно-исследовательских лабораторий, факультетов и кафедр ведущих вузов страны, клиник научно-исследовательских центров и вузов, передовых компаний реального сектора экономики, академических институтов и отраслевых научных организаций, кардинальное расширение международной интеграции российских вузов. Планируется открытие базовых кафедр вузов в научно-исследовательских институтах, национальных исследовательских центрах и государственных научных центрах.

Предусматривается полномасштабное функционирование «инновационного трансфера», в рамках которого планируется взаимодействие ключевых институтов развития, научных фондов, создание открытой базы данных инновационных проектов в медицинской науке.

На втором этапе необходимо продолжить укрупнение, профилирование и реорганизацию ведомственных научных организаций в соответствии с научными платформами, а также кардинальное обновление их материально-технической базы, финансирование ориентированных фундаментальных исследований будет сконцентрировано на работах, характеризующихся глобальной конкурентоспособностью. На основании подготовленных на первом этапе регистрационных досье необходимо начать клинические исследования инновационных продуктов. Одновременно планируется провести доклинические испытания следующей серии инновационных продуктов.

Предусматривается увеличение числа стажировок молодых специалистов в ведущих исследовательских и биотехнологических центрах мира.

Планируется создание центров по приоритетным направлениям медицинской науки и технологий с участием зарубежных научных организаций и компаний, а также лабораторий, центров трансфера технологий, будет осуществлена гармонизация российских и международных регламентов и стандартов в области медицинской науки и технологий.

На третьем этапе необходимо расширить условия для коммерциализации разработанных инновационных продуктов с гарантированной их закупкой государством. Вывод продуктов на рынок обеспечит возможности возмещения затрат всеми участниками процесса и инвестирования полученных средств в новые проекты и разработки.

Планируется качественно повысить уровень научных исследований российских медицинских учреждений, престиж медицинских научных специальностей для молодых специалистов и удельный вес российских публикаций в общемировом рейтинге.

13. Экономический эффект реализации Стратегии

Экономический эффект реализации Стратегии рассчитывается в конце каждого из этапов ее реализации.

Методика определения оценки эффективности Стратегии приведена в приложении № 1.

14. Мониторинг, управление и контроль за реализацией Стратегии

Контроль за реализацией Стратегии осуществляется межведомственным советом по медицинской науке на основании плана мероприятий по реализации Стратегии, ведомственных планов по ее реализации, отчетов по выполнению программы мероприятий по развитию медицинской науки и соответствующих государственных заданий.

Министерство здравоохранения Российской Федерации представляет ежегодно отчет о реализации Стратегии в Правительство Российской Федерации. Основные индикативные показатели реализации Стратегии приведены в приложении № 2.

ПРИЛОЖЕНИЕ № 1
к Стратегии развития
медицинской науки в Российской Федерации
на период до 2025 года

МЕТОДИКА
определения оценки эффективности Стратегии развития
медицинской науки в Российской Федерации
на период до 2025 года

Настоящая методика осуществляет оценку эффективности Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года, утвержденной распоряжением Правительства Российской Федерации от 28 декабря 2012 г. № 2580-р (далее – Стратегия).

В соответствии с настоящей методикой проводится оценка достижения плановых параметров.

Степень достижения целей и решения задач (Сд) Стратегии в целом путем сопоставления фактически достигнутых значений индикаторов Стратегии их плановым значениям (для индикаторов (показателей), желаемой тенденцией развития которых является снижение значений) определяется по формуле:

$$Сд = Зф/Зп \times 100\%,$$

где: Зф – фактическое значение индикатора (показателя) Стратегии; Зп – плановое значение индикатора (показателя) Стратегии.

Степень соответствия запланированному уровню затрат (Уз) из федерального бюджета и иных источников ресурсного обеспечения Стратегии путем сопоставления плановых и фактических объемов финансирования мероприятий Стратегии по каждому источнику ресурсного обеспечения определяется по формуле:

$$Уз = Фф/Фп \times 100\%,$$

где: Фф – фактический объем финансовых ресурсов, направленный на реализацию мероприятий Стратегии; Фп – плановый объем финансовых ресурсов на соответствующий отчетный период.

Степень реализации мероприятий Стратегии (достижения ожидаемых непосредственных результатов их реализации) на основе сопоставления ожидаемых и фактически полученных непосредственных результатов реализации основных мероприятий по годам на основе ежегодных

планов реализации Стратегии является оценкой достижения плановых параметров.

В рамках настоящей методики осуществляется оценка эффекта реализации инвестиционных проектов с государственным участием (далее – эффект поддержки реализации проектов). При оценке эффекта поддержки реализации проектов учитываются:

экономический эффект поддержки реализации проектов (чистый дисконтированный доход от инвестиций, эффект реализации проекта для смежных отраслей, объем привлеченных негосударственных (в том числе зарубежных) инвестиций на 1 рубль бюджетных инвестиций);

социальный эффект поддержки реализации проектов (создание новых рабочих мест, увеличение продолжительности жизни и снижение смертности).

При расчете эффекта поддержки реализации проектов отдельно учитываются различные типы проектов (федеральные инвестиции, реализация целевых проектов в рамках государственно-частного партнерства).

ПРОГНОЗ
 изменения индикативных показателей в ходе реализации Стратегии*

Индикативные показатели	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	Ито- го
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Смертность от всех причин (на 1000 человек населения)	13	12,8	12,5	12,3	12,1	11,8	11,6	11,4	11,2	11	10,8	10,6	10,4	10,4
Ожидаемая продолжитель- ность жизни при рождении (лет)	70,8	71,6	72,2	72,7	73,4	74	74,2	74,3	74,5	74,7	74,9	75,1	75,3	75,3
Доля модернизированных лабораторий, соответствую- щих требованиям надлежа- щей лабораторной практики, в общем их числе** (процен- тов нарастающим итогом)	–	–	5	7	7	10	15	20	25	30	35	40	50	50
Доля модернизированных клинических подразделений, соответствующих требова- ниям надлежащей клиничес- кой практики, в общем их числе*** (процентов нараста- ющим итогом)	–	–	–	5	10	15	20	30	50	70	75	85	100	100

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Число модернизированных лабораторий, соответствующих требованиям надлежащей клеточной и тканевой практики (единиц нарастающим итогом)	–	–	–	1	1	2	2	3	3	4	5	5	5	5
Число введенных в эксплуатацию вивариев, питомников для лабораторных животных и центров доклинических исследований (единиц нарастающим итогом)	–	–	–	2	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5
Процент загруженности введенных в строй инфраструктурных объектов (процентов)	–	–	–	10	15	20	25	50	55	60	70	80	90	90
Средний возраст научных сотрудников (лет)	49	47	46	45	45	44	44	43	43	43	42	42	42	42
Доля научных сотрудников в возрасте до 39 лет в общем числе научных сотрудников (процентов)	25	25	26	27	28	29	30	31	32	33	33	33	33	33
Число научных сотрудников, прошедших международные стажировки за рубежом (человек)	–	50	75	100	125	150	175	200	225	250	275	300	300	300
Число научных сотрудников с индексом Хирша больше 10 (человек)	28	30	30	35	40	45	50	58	65	75	85	95	100	100

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Число введенных в эксплуатацию центров коллективного пользования (единиц нарастающим итогом)	–	2	3	4	6	8	9	10	10	10	10	10	10	10
Удельный вес научных публикаций российской медицинской науки в общем мире число публикаций (процент общего числа публикаций в журналах, индексируемых в Web of Science)	0,6	0,6	0,6	0,7	0,8	0,9	1	1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,5
Число научных и образовательных учреждений медицинской науки в Российской Федерации, входящих в мировой рейтинг публикации-онной активности (единиц, по данным SciVerse Scopus)	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	3	4	8	8
Число международных патентов (единиц нарастающим итогом)	1	2	6	12	14	14	15	17	18	19	21	22	24	24
Число новых лекарственных средств, доведенных до стадии клинических исследований (единиц нарастающим итогом)	–	2	4	12	12	13	13	13	14	15	16	18	20	20

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Число зарегистрированных инновационных лекарственных препаратов, защищенных зарубежными патентами (единиц нарастающим итогом)	–	–	–	1	2	2	2	3	3	3	4	4	5	5
Число зарегистрированных инновационных изделий биомедицинского назначения (единиц нарастающим итогом)	1	2	3	4	5	5	5	6	6	7	7	8	9	9
Число зарегистрированных биосовместимых материалов (единиц нарастающим итогом)	–	1	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	15
Число зарегистрированных клеточных продуктов (единиц нарастающим итогом)	–	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	29
Число диагностических тест-систем (единиц нарастающим итогом)	3	5	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	68
Доля инновационных продуктов, выведенных на рынок, в числе впервые зарегистрированных продуктов (процентов)	–	1	3	4	5	5	6	6	7	7	8	9	10	10

* Приведенные показатели разработаны на основе государственной программы Российской Федерации «Развитие здравоохранения».

** Процент от общего числа лабораторий – участников проекта.

*** Процент от числа клинических подразделений, проводящих клинические исследования.

VI. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НИР ЗА 2012 г. ПО КОМПЛЕКСНОЙ ПРОБЛЕМЕ МЕДИЦИНЫ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»*

**(научный совет по трансплантологии
и искусственным органам № 21)****

В 2012 г. велись исследования по 36 научным темам. К 31 декабря 2012 года закончена разработка 11 НИР (30,6%), из них 8 – прикладных и 3 – фундаментальных. Финансирование всех научных разработок осуществлялось из бюджета Минздрава России. В разработке проблемы приняли участие 206 сотрудников научно-исследовательских учреждений, из них со степенью доктора наук – 53 (25,7%), кандидата наук – 117 (56,8%). В результате завершенных в 2012 году исследований получены следующие данные по отдельным направлениям проблемы. В отчет включены также данные по переходящим НИР, имеющие важные для науки и практики результаты.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Разработаны биологические и клинические основы трансплантации жизненно важных органов от АВО-несовместимых доноров. На основании успешного клинического опыта, анализа динамики трансформирующего фактора роста β (TGF- β), анти-HLA-аутоантител и других биомаркеров доказана ее безопасность и эффективность при лечении детей с терминальными стадиями заболеваний печени, не имеющих совместимого потенциального родственного донора. Разработан протокол предоперационной подготовки и ведения АВО-несовместимых реципиентов солидных органов, включающий введение ритуксимаба и сеансы плазмафереза с полным замещением объема циркулирующей крови свежее-

* По материалам отчета о выполнении научных исследований по комплексной проблеме медицины «Трансплантология и искусственные органы» за 2012 г.

** Утвержденный Постановлением Президиума РАМН №64 от 14 апреля 2010 г. «О научных советах по комплексным проблемам Российской Федерации».

замороженной плазмой АВ(IV) либо (при наличии противопоказаний к введению ритуксимаба) только плазмафереза. Применение разработанной схемы предоперационной подготовки позволяет снизить титр антител и не требует значимого усиления иммуносупрессивной терапии в посттрансплантационном периоде. Накоплен ценный клинический опыт 14 трансплантаций печени детям раннего возраста, 4 трансплантаций сердца, 11 трансплантаций почки от АВО-несовместимых доноров.

Полученные результаты могут быть использованы как при родственной, так и трупной трансплантации для спасения пациентов, не имеющих совместимого потенциального донора сердца, почки, печени, в том числе для детей раннего возраста в терминальной стадии печеночной недостаточности. Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов позволит увеличить количество трансплантаций, число излеченных социально адаптированных больных.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

На материале обследования 98 реципиентов сердца выявлены значимые биомаркеры – факторы риска развития сердечно-сосудистых осложнений в посттрансплантационном периоде: аутоантитела к кардиолипину, модулятор биодоступности инсулиноподобного фактора роста 1 – ассоциированный с беременностью протеин плазмы А, растворимая форма лиганда CD40 и плацентарный фактор роста. Доказано, что выявление у потенциальных реципиентов сердца на этапе дотрансплантационного обследования повышенных уровней указанных биомаркеров значительно, более чем в 2 раза, усиливает риск развития в посттрансплантационном периоде острого клеточного, антителоопосредованного отторжения трансплантата и васкулопатии пересаженного сердца.

Полученные результаты могут быть использованы для прогнозирования и оптимизации ближайших и отдаленных результатов трансплантации сердца. Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов позволит увеличить количество трансплантаций сердца, снизить частоту развития осложнений после трансплантации сердца, увеличить продолжительность и качество жизни реципиентов сердца; обеспечит повышение качества обследования и лечения больных в терминальной стадии застойной сердечной недостаточности, ожидающих трансплантацию сердца.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

На материале обследования 60 реципиентов и доноров аллотрансплантатов жизненно важных органов человека выявлена связь полиморфизмов и мутации генов, кодирующих факторы свертывающей системы крови, с продолжительностью сохранения функции пересаженного органа. Разработаны рекомендации по предупреждению потери трансплантата, обусловленной индивидуальными генетически детерминированными признаками факторов, связанных с нарушениями свертывающей системы крови.

Разработан способ профилактики острого отторжения аллотрансплантата трупной почки, основанный на введении блокаторов альфа-цепи молекулы рецептора интерлейкина-2, позволяющий существенно снизить частоту и тяжесть острого отторжения трансплантата почки у реципиентов, генетически предрасположенных к развитию острого отторжения.

Полученные результаты могут быть использованы для улучшения результатов трансплантаций почки, прогнозирования эффективности применения современных иммунодепрессантов. Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов позволит благодаря индивидуализации иммуносупрессии существенно снизить затраты на медикаментозное обеспечение трансплантации без ухудшения ее результатов.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

На материале обследования пациентов, которым выполнялась лимбальная сотрансплантация для профилактики отторжения донорских роговиц при кератопластике высокого риска, установлено, что лимбальные трансплантаты, выделенные из глазных яблок донора-трупа, прошедшие стадию органотипической консервации, способны индуцировать процессы физиологической регенерации и репарации роговицы и кератотрансплантата при сотрансплантации, что существенно расширяет показания для их клинического применения.

(ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. ак. С.Н. Федорова Минздрава России, ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

На материале обследования 211 больных в терминальной стадии хронической почечной недостаточности, которым в дальнейшем выполняли трансплантацию почки и вакцинировали различными белковыми препаратами, установлено, что актуарная выживаемость реципиентов трансплантированных органов, выживаемость реципиентов с функционирующими трансплантированными органами, сроки нормализации уровня креатинина крови, динамика суточной экскреции белка с мочой не отличаются от таковых у реципиентов, которым не проводили вакцинацию. Частота и степень острого отторжения пересаженного органа, оцененная по классификации Banff, также не различались у вакцинированных и невакцинированных реципиентов.

(ФГБУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» РАМН)

РАЗРАБОТКА И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ИСКУССТВЕННЫХ И ГИБРИДНЫХ ОРГАНОВ И СИСТЕМ ЗАМЕЩЕНИЯ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА

Разработаны опытные образцы и проведены экспериментальные исследования имплантируемого осевого насоса, длительно и надежно обеспечивающего организм необходимым кровотоком при минимальной травме крови и вероятности тромбообразования в полостях насоса и во входной и выходной магистралах.

Полученные результаты позволили перейти к клиническому применению инновационной экономически выгодной медицинской технологии для коррекции и лечения тяжелых форм хронической сердечной недостаточности.

Эффективность внедрения полученных результатов связана с возможностью клинического использования импортозамещающей высокотехнологичной отечественной продукции, не уступающей по своим характеристикам лучшим зарубежным образцам, но имеющей стоимость ниже аналогичных зарубежных технологий. Результатом применения станет улучшение качества жизни пациентов с тяжелой застойной сердечной недостаточностью, возможность проводить операции при длительной механической поддержке кровообращения.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

Разработана высокоэффективная система беспроводной передачи энергии, обеспечивающая, без нарушения кожного покрова, бесперебойное электропитание от наружной батареи имплантируемых насосов аппаратов вспомогательного кровообращения, частично или полностью замещающих функцию пораженного миокарда.

Использование разработанной технологии в условиях длительного применения аппаратов вспомогательного кровообращения позволит значительно снизить риск инфекционных осложнений.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

В рамках выполнения программы по экспериментальным и клиническим исследованиям новой методики защиты миокарда от ишемического/реперфузионного повреждения разработан ряд кристаллоидных кардиоплегических растворов на основе буферного раствора Кребса–Хенселейта, обеспечивающих высокую степень защиты миокарда от тотальной ишемии и превосходящих по своей эффективности известные кристаллоидные растворы, такие как раствор госпиталя Св. Томаса № 2 и раствор «Кустадиол» в отсутствие соответствующей глубокой гипотермии.

(ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздрава России)

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ КЛЕТОЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

В рамках выполнения научно-исследовательской работы по созданию и исследованию биополимерных матриц для восстановительной и заместительной хирургии разработаны отечественные биodeградируемые матрицы Сферо®ГЕЛЬ и ЭластоПОБ®.

Экспериментально доказаны и клинически подтверждены высокие биосовместимые и биостимулирующие свойства биополимерных имплантатов Сферо®ГЕЛЬ и ЭластоПОБ®, способствующие регенерационным процессам в местах повреждения тканей.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

Разработана и оптимизирована тканеинженерная конструкция печени (ТИК) из функционально активных ассоциатов клеток печени и биodeградируемых носителей для коррекции и лечения печеночной недостаточности. В эксперименте достигнута и доказана длительная (до 180 дней) выживаемость клеточных ассоциатов, адгезированных на различных биodeградируемых носителях *in vivo*; на основании иммуногистохимических исследований установлена длительная функциональная активность аллогенных трансплантированных клеточных ассоциатов на тканеинженерных конструкциях *in vivo*.

Конечными продуктами проекта будут конкурентоспособный на внешнем рынке биополимерный высокопористый каркас для биоискусственной печени с биостимулирующими свойствами (ТИК печени) и новый высокотехнологичный, доступный для широкого использования метод коррекции тяжелых форм печеночной недостаточности.

(ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России)

Разработан эффективный метод лечения больных сердечной недостаточностью с электромеханической диссинхронией левого желудочка – трансмиокардиальная имплантация аутологичных стволовых клеток костного мозга в сочетании с кардиоресинхронизирующей терапией. Доказано, что ресинхронизирующая терапия и имплантация аутологичных моноклеарных клеток костного мозга оказывают независимое влияние на устранение электромеханической диссинхронии и улучшение миокардиальной перфузии соответственно. Сочетание данных методик может значительно улучшить клинический и функциональный статус пациентов с тяжелой сердечной недостаточностью и электромеханической диссинхронией левого желудочка.

(ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России)

Доказано, что трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация в сочетании с имплантацией моноклеарной фракции аутологичного костного

мозга является безопасным и эффективным методом лечения ишемической болезни сердца у пациентов с диффузным и дистальным поражением коронарного русла, способствует восстановлению перфузии гибернированного миокарда и улучшению сократительной способности миокарда. Внедрение результатов работы позволят повысить эффективность хирургического лечения пациентов с критическим атеросклеротическим поражением коронарного русла.

(ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина» Минздрава России)

С помощью метода флуоресцентной микроскопии клеток эндотелия трупных донорских роговиц человека, окрашенных витальными красителями, определены пороговые показатели апоптоза и некроза при использовании гомологичного регуляторного пептида роговицы (фармакопейный препарат NayDil Nr. 37, «ВитОрган», Германия) в процессе гипотермической и нормотермической консервации трансплантата донорской роговицы. Созданы номограммы, позволяющие рассчитать потерю эндотелиальных клеток донорских роговиц в процессе консервации в зависимости от вида, срока консервации, состава сред и исходной плотности эндотелиальных клеток донорской роговицы, что позволяет персонализировать выбор донорского материала в зависимости от исходной нозологической формы патологии роговицы реципиента.

(ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. ак. С.Н. Федорова Минздрава России, ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН)

Впервые разработана конструкция биокератопротезного комплекса на основе фотохимически модифицированной аллогенной донорской роговицы и культивированных кожных фибробластов кожи реципиента на желатиновых микроносителях. Конструкция апробирована в хроническом эксперименте на модели сосудистого ожогового бельма у кроликов. Показано, что имплантация биокератопротезного комплекса повышает надежность его биологического приживления в глазах экспериментальных животных (кроликов) и обеспечивает профилактику специфических осложнений за счет активного формирования соединительно-тканной капсулы вокруг опорной пластинки кератопротеза, интенсивной неоваскуляризации и пролиферации аутологических фибробластов в полости интрастромального кармана.

(ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. ак. С.Н. Федорова Минздрава России, ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Колцова РАН»)

Разработан способ получения монослоя интактных клеток ретинального пигментного эпителия с сохранением архитектоники индивидуальных образцов клеток ретинального пигментного эпителия, выделенных

из различных участков глазного дна отдельных кадаверных глаз человека; проанализированы спектральные свойства ретинального пигментного эпителия, выделенного из кадаверных глаз доноров различных возрастных групп; разработана экспериментальная модель фотоокисления липофусциновых гранул ретинального пигментного эпителия; проведены экспериментальные исследования состава и спектральных характеристик флуорофорных соединений липофусциновых гранул ретинального пигментного эпителия, выделенного из отдельных кадаверных в условиях *in vitro* и *in situ*.

(МНТК «Микрохирургия глаза» им. ак. С.Н. Федорова Минздрава России, ГУ «Институт общей патологии и патофизиологии РАМН»; ГУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН»)

Разработаны подходы к созданию биоинженерной конструкции 3D эквивалентов передних слоев роговицы на основе биополимерных матриц из синтетических белков фиброина и спидроина с 3D-культивированными клеточными кластерами из мультипотентных стволовых клеток лимбальной зоны глазного яблока.

(ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. ак. С.Н. Федорова Минздрава России, ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН»; ФГБОУ «МГУ имени М.В. Ломоносова»).

В 2012 г. в результате проведенных исследований создано 6 новых изделий медицинского назначения, выпущено 2 монографии, 3 пособия для врачей и научных работников, опубликовано 129 статей в центральных рецензируемых журналах (из них 34 в зарубежных изданиях). Зарегистрировано 10 патентов на изобретения, 2 программных средства для ЭВМ и 1 информационная база данных, получено 4 положительных решения по патентам, разработан и утвержден «Порядок оказания медицинской помощи по профилю «хирургия» (трансплантация органов и (или) тканей человека)», разработаны и приняты нормативные документы «Стандарты медицинской помощи по трансплантации». Защищены 3 докторские и 13 кандидатских диссертаций по специальности «трансплантология и искусственные органы» и смежным с нею дисциплинам.

**VII. ДИССЕРТАЦИИ
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»,
ЗАЩИЩЕННЫЕ В 2012 г.**

**ПЕРЕЧЕНЬ СОВЕТОВ ПО ЗАЩИТЕ
ДОКТОРСКИХ И КАНДИДАТСКИХ
ДИССЕРТАЦИЙ, УТВЕРЖДЕННЫХ
(ПРОДЛЕННЫХ) ПРИКАЗАМИ
РОСОБРНАДЗОРА
(РЕДАКЦИЯ 25 ИЮЛЯ 2008 ГОДА),
ПРИНИМАЮЩИХ В 2012 ГОДУ
К ЗАЩИТЕ ДИССЕРТАЦИИ
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 14.01.24. –
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»**

**Д 208.055.01 при ФГБУ «Федеральный научный центр
трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова»**

**Минздравсоцразвития РФ,
приказ председателя ВАК № 1925-1333 от 09.09.09**

- медицинские науки,**
- биологические науки**

**Д 001.027.02 при ГУ «Российский научный центр хирургии
имени академика Б.В. Петровского» РАМН,**

приказ председателя ВАК № 1925-1805 от 11.09.09

- медицинские науки**

**АВТОРЕФЕРАТЫ ДИССЕРТАЦИЙ
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»,
ЗАЩИЩЕННЫХ В 2012 г.**

**АВТОРЕФЕРАТЫ ДИССЕРТАЦИЙ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК**

Герасимова Ольга Анатольевна

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПРИ ТЕРМИНАЛЬНЫХ СТАДИЯХ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ: ПУТИ УЛУЧШЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Москва – 2012

Работа выполнена в ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения и социального развития РФ

Научный консультант:

член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук,
профессор

Гранов Дмитрий Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Трансплантация печени в мире в последние два десятилетия из революционного способа лечения больных с терминальными стадиями болезней печени стала распространенным видом помощи таким больным [Movahedi Z. et al., 2010]. В последние годы в России наметилась отчетливая тенденция к увеличению числа операций трансплантации печени [Андрейцева О.И., Чжао А.В., 2004; Готье С.В., Мойсюк Я.Г., 2010; Готье С.В., Цирульникова О.М., 2012]. В Российском научном центре радиологии и хирургических технологий (РНЦРХТ) трансплантация печени выполняется с 1998 г. В настоящее время центр обладает опытом более 100 ортотопических трансплантаций печени. С 2000-го по 2010 г., когда было завершено настоящее исследование, выполнено 80 операций

ортотопической трансплантации печени (ОТП). Тем не менее, потребность в данном виде медицинской помощи остается значительной. В европейских странах выполняется около 14–14,5 операций трупной трансплантации печени на 1млн населения в год [Manyalich M., et al., IRODAT, 2009; Newsletter transplant, 2011], в России этот показатель достигает 0,5 [Мойсюк Я.Г., 2010].

В странах Европы, по данным Eurotransplant за 2010 г., в листах ожидания на трансплантацию печени состояло более 12 тыс. больных, а операций было выполнено 6665, включая трупную, родственную и сплит-трансплантацию печени [www.eurotransplant.org; Newsletter transplant, 2011]. В США, по данным United Network Organ Sharing (UNOS), к концу 2010 г. в листах ожидания находилось 16253 больных, за 2010 г. выполнено 6291 трансплантаций печени [www.unos.org], что составило 19,8 операций на 1млн населения. Таким образом, органов, пригодных для трансплантации всегда меньше, чем людей, живущих надеждой их получить. Поскольку такая ситуация является данностью и изменить ее практически невозможно, то трансплантологи всегда стоят перед сложным выбором определенного реципиента.

В России в связи с небольшим количеством ОТП, дефицитом донорских органов, пригодных для трансплантации, с одной стороны, целесообразно отбирать кандидатов на трансплантацию печени с терминальной стадией заболевания, в стадии декомпенсации. С другой стороны, шансов дождаться операции больше у больных со стабильным циррозом печени. Несмотря на то что критерии отбора на трансплантацию печени при таких заболеваниях известны и используются в практике [Андрейцева О.И., Чжао А.В., 2004; Гранов Д.А., 2007], остаются крайне актуальными проблемы выживаемости в листе ожидания и выбора определенного кандидата на операцию при предложении донорского органа. При отборе потенциального реципиента необходимо учитывать множество факторов. Для объективизации прогноза выживаемости в листе ожидания используют математические модели [Malinchok M. et al., 2000; Wiesner R.M. et al. 2001; Brown R.S., Lake J.R. 2005; Busuttil R.W., 2005.].

Краткосрочный прогноз выживаемости в листе ожидания определяется, как правило, по математической модели (MELD), основанной на логарифмической зависимости содержания билирубина, креатинина и МНО в сыворотке крови.

При наличии показателя MELD 16 и более, трансплантация должна быть выполнена в ближайшее время [Kamath P.S. et al. 2001]. Этот критерий применяется ко всем нозологиям, не учитывая индивидуальные особенности пациента и особенности течения различных заболеваний, поэтому он подвергается критике в литературе [Murray K.F., 2005; Aranda-Michel J., 2008]. Тем не менее, введение шкалы оценки MELD позволило объективизировать отбор больных на трансплантацию пе-

чени. Динамическое наблюдение в листе ожидания выявляет дельту MELD, определяя для каждого больного необходимость проведения трансплантации печени. При проведении терапевтических мероприятий можно достигнуть улучшения состояния больного, ожидающего трансплантацию печени, что отразится на значении MELD. Прогноз выживаемости в листе ожидания может улучшаться, и срочность выполнения ОТП снижаться.

Среди показаний к трансплантации печени больные аутоиммунными заболеваниями печени (АИЗП) занимают, по данным зарубежной литературы, 5–6 места [Aranda-Michel J. et al., 2008]. Однако в прошлое десятилетие они конкурировали с вирусными гепатитами (ВГ). Актуализация проблемы ранней диагностики и лечения АИЗП способствовала существенному сокращению популяции больных, нуждающихся в ОТП, и улучшению показателей выживаемости в листе ожидания [Duclos-Vallee J.-C. et al., 2009].

Согласно данным РНЦРХТ, аутоиммунные заболевания печени занимают второе место среди показаний к ОТП вслед за вирусными гепатитами. Этот факт определяет важность полноценного обследования потенциальных кандидатов на трансплантацию печени, обращающихся в трансплантационный центр с признаками аутоиммунного поражения печени, необходимость разработки диагностических алгоритмов и оптимизации лечения на этапе ожидания ОТП. Актуальность проблемы диагностики и лечения АИЗП подтверждена данными отечественных авторов [Ивашкин В.Т., Буверов А.О., 2001].

Накопленный опыт наблюдения за больными с АИЗП после ОТП диктует необходимость выработки лечебной тактики для профилактики рецидивов болезни печени в трансплантате. В некоторых исследованиях показано, что морфологические признаки рецидива АИЗП возникают намного раньше, чем клинические симптомы болезни, поэтому правильная оценка биопсийного материала является актуальной для дальнейшей коррекции тактики ведения реципиента [Sylvestre P.B. et al., 2003; Montano-Loza A.J. et al., 2009].

Первоочередной целью психологических исследований в трансплантологии является всестороннее изучение личности больного циррозом печени, его клинико-психологического и социального статуса. В различных трансплантационных центрах разработаны схемы клинико-психологического обследования, но они направлены, главным образом, на выяснение психического статуса, социальной адаптации, финансово-страховой ситуации, условий проживания, степени поддержки семьи [Krahn L.E. et al., 2005]. С помощью психологических тестов выявляют алкоголизм, лекарственную зависимость. Относительными противопоказаниями являются активные суицидальные мысли, рассматриваемые в рамках депрессии, несоблюдение больным медицинских рекомендаций на этапе лечения болез-

ни печени, а также отсутствие социальной поддержки и семьи [Krahn L.E. et al., 2005]. Иногда расстройства настроения, сохраняющиеся после операции, могут приводить к отказу от приема иммуносупрессивных препаратов, потере трансплантата [Nickel R. et al., 2002]. Поэтому особое значение приобретает комплексное клинико-психологическое обследование больных в листе ожидания и после ОТП, при котором исследуется внутренняя картина болезни.

В доступной отечественной и зарубежной литературе не удалось найти сведений о роли субпопуляций стволовых гемопоэтических клеток (СГК) крови в течении посттрансплантационного периода. Благоприятное влияние трансплантации аутологичного костного мозга на функциональную активность почки при гломерулонефрите было доказано ранее [Рябов С.И., Шутко А.Н., 1989]. Положительные результаты такой же процедуры зарегистрированы при циррозе печени [Старостина Н.М. и др., 2009]. В процессе иммунодепрессивной терапии чрезмерное понижение уровня циркулирующих в крови реципиентов незрелых мононуклеарных клеток сопровождалось увеличением риска ранней смертности. Поэтому было высказано предположение о возможном участии клеток-предшественников костномозгового происхождения в поддержании жизнеспособности трансплантата печени [Гранов А.М., Шутко А.Н., 2002]. Позднее авторы обнаружили существенные флуктуации содержания стволовых гемопоэтических клеток (СГК) и клеток-предшественников лимфоцитопоза во фракции мононуклеаров периферической крови реципиентов печени в различные периоды времени после трансплантации, что является признаком «турбулентного» кроветворения [Шутко А.Н. с соавт., 2009]. Согласно ряду исследований СГК способны мигрировать в различные ткани и органы, в печень, легкие, желудочно-кишечный тракт, сосуды и сердце, поддерживая в них пролиферативные процессы [Lagasse E. et al., 2000; Harraz R. et al., 2001]. С учетом рассмотрения капиллярной сети печени в качестве вероятной повреждаемой мишени в картине патогенеза отторжения [Morales-Buenrostro L. et al., 2008] интерес представляют сведения о том, что определенная часть циркулирующих СГК несет также и маркеры предшественников эндотелиальных клеток [Peichev M. et al., 2000]. Кроме того, ангиогенными свойствами обладают и некоторые субпопуляции Т-лимфоцитов [Jin Hur et al., 2007].

Изложенные выше факты определили значимость проблемы и явились предметом исследования в настоящей работе.

Цель исследования

Улучшение результатов трансплантации печени больным с терминальными стадиями аутоиммунных заболеваний гепатобилиарной системы.

Задачи исследования

1. Изучить структуру больных, особенности течения и осложнения терминальной стадии заболеваний печени у пациентов в листе ожидания и проанализировать возможности терапевтической коррекции их состояния.
2. Разработать алгоритм наблюдения и лечения больных аутоиммунными гепатобилиарными заболеваниями в листе ожидания трансплантации печени.
3. Изучить особенности течения посттрансплантационного периода у больных с аутоиммунными заболеваниями печени и разработать схему комплексной диагностики дисфункции трансплантата печени у больных с аутоиммунными заболеваниями гепатобилиарной системы и определить подходы к терапии.
4. Изучить роль стволовых гемопоэтических клеток крови в течении посттрансплантационного периода.
5. Изучить особенности внутренней картины болезни у пациентов с аутоиммунными гепатобилиарными заболеваниями до и после трансплантации печени, с определением психотерапевтических мишеней.

Научная новизна исследования

Впервые в отечественной медицине выполнены сравнительные исследования двух самых многочисленных групп больных в листе ожидания трансплантации печени, определены особенности течения терминальной стадии аутоиммунных заболеваний гепатобилиарной системы.

Впервые разработаны и внедрены в клиническую практику алгоритмы диагностики, динамического наблюдения и лечения больных с аутоиммунными заболеваниями печени в листе ожидания и после трансплантации.

Впервые изучен спектр циркулирующих стволовых гемопоэтических клеток крови и их роль в течении раннего посттрансплантационного периода.

Проведены пилотные клинико-психологические исследования у больных аутоиммунными заболеваниями печени в листе ожидания, в раннем и отдаленном посттрансплантационном периоде. Получены результаты сравнительного исследования больных аутоиммунными заболеваниями печени и вирусными гепатитами, выявившие существенные различия в эмоциональной сфере. Впервые выявлена взаимосвязь эмоциональных расстройств с качеством жизни и типами отношения к болезни.

Практическая значимость работы

В результате проведенного исследования актуализировано значение АИЗП в спектре патологии, приводящей в терминальной стадии болезни к необходимости выполнения трансплантации печени. Разработаны алго-

ритмы диагностики, наблюдения и поддерживающего лечения больных в терминальной стадии АИЗП в период ожидания ОТП.

На основании проведенного анализа доказана необходимость комплексной оценки дисфункции трансплантата печени, включающей протокольные биопсии.

Выявленные изменения популяций СГК определенно влияют на функцию трансплантата печени, что позволяет прогнозировать течение раннего посттрансплантационного периода у реципиентов.

Доказаны необходимость психологической диагностики у пациентов на всех этапах наблюдения для выявления психической патологии, изучения внутренней картины болезни и мотивационной сферы. Обнаруженные связи позволили в дальнейшем найти оптимальные пути решения психологических проблем у данных групп пациентов. Разработаны психотерапевтические программы, направленные на облегчение страданий больных в период ожидания ОТП, на процесс восстановления в раннем послеоперационном периоде, скорейшее возвращение к привычному социальному функционированию.

Положения, выносимые на защиту

1. В общей структуре больных в листе ожидания трансплантации печени преобладают пациенты с циррозами печени вирусной этиологии и с аутоиммунными заболеваниями гепатобилиарной системы. Разработанный алгоритм обследования и лечения больных в листе ожидания, а также терапевтическая коррекция их состояния позволяют снизить риск развития жизнеугрожающих осложнений и трети случаев снизить показатель неотложности выполнения трансплантации печени.
2. Для ранней диагностики рецидива аутоиммунного заболевания печени после трансплантации в комплекс клинико-лабораторных исследований должны быть включены определение спектра и титра аутоантител в крови и динамическое морфологическое исследование трансплантата. Успешная коррекция осуществляется увеличением объема или модификацией иммуносупрессивной терапии.
3. Изменения субпопуляций стволовых гемопоэтических клеток в циркулирующей крови отражают состояние трансплантата печени и реципиента в раннем послеоперационном периоде, что определяет необходимость их мониторинга.
4. Результаты, полученные при изучении внутренней картины болезни у пациентов с циррозами печени вирусной и аутоиммунной природы на этапах ожидания трансплантации печени и в посттрансплантационном периоде, позволяют определять психотерапевтические мишени и планировать психокоррекционные мероприятия.

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты внедрены в практическую деятельность отделения хирургии и отделения рентгенохирургических методов лечения ФГУ РНЦРХТ, отделения терапии городской клинической больницы № 31, отделения гастроэнтерологии Ленинградской областной клинической больницы, отделения вирусных гепатитов Санкт-Петербургского центра по борьбе с инфекционными заболеваниями, отделения гастроэнтерологии Республиканской клинической больницы им. В.А. Баранова г. Петрозаводска. Основные положения диссертационной работы Герасимовой О.А. могут быть рекомендованы для применения в отделениях гастроэнтерологии и гепатологии, занимающихся лечением больных АИЗП, а также в трансплантологических центрах.

Результаты исследований используются в учебном процессе на кафедрах хирургической гепатологии СПбГМУ им. И.П. Павлова, гастроэнтерологии и диетологии Северо-Западного медицинского университета им. И.И. Мечникова, инфекционных болезней взрослых Педиатрической медицинской академии.

Апробация работы и публикации

Содержание диссертационной работы было представлено на IV и V Всероссийских съездах трансплантологов (Москва, 2008 и 2010 гг.), научно-практической конференции «Инфекции в трансплантологии» (Москва, 2009), Международном Славяно-Балтийском научном медицинском форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2009 и 2010» (Санкт-Петербург), заседании Санкт-Петербургского терапевтического общества (2008 г.), на Республиканской научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития трансплантологии в Республике Татарстан» (11 декабря 2009 г., Казань), на I Евроазиатском конгрессе по изучению инфекционных заболеваний (Санкт-Петербург, 1–3 декабря 2010 г.), 10-й международной российско-итальянской конференции «Актуальные вопросы социально-значимых инфекций», (Великий Новгород, 26–27 мая 2011 г.), 16-й Северо-Западной научно практической конференции «Санкт-Петербург – Фармакотерапия-2012» (Санкт-Петербург 15–16 марта 2012 г.).

Стеновые доклады представлены на II Научно-образовательном форуме с международным участием «МЕДиагностика 2010» (Московская обл., г. Красногорск, 25–27 мая 2010 г.), XXI Конференции APASL, Бангкок 17–21 февраля 2011 г., 47 Конференции EASL, Барселона, 18–22 апреля 2012 г.

Основные положения работы представлены в 32 научных трудах, из них 15 – в центральных рецензируемых журналах.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 217 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, приложения и библиографического указателя. Диссертация иллюстрирована 62 рисунками и содержит 25 таблиц. Список используемой литературы включает 282 источника, из них 37 отечественных и 245 зарубежных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование были включены больные из листа ожидания и в различные сроки после трансплантации печени. Из 320 больных, обратившихся в 2000–2010 гг. за трансплантационной помощью с циррозом печени различной этиологии, в исследование были включены 144 больных. Спектр патологии, зафиксированной при обращении больных, представлен на рис. 1.

Из них 62 больных (исследуемая 1-я группа) с терминальной стадией АИЗП: АИГ – 21 чел., преимущественно II типа, ПБЦ – 30 чел., ПСХ – 4 чел., ПБЦ + АИГ – 7 чел.; 82 больных с циррозами печени вирусной этиологии (2 группа сравнения): ХВГС – 41 чел., ХВГВ – 33 чел., ХВГС + В – 8 чел. Группы были сопоставимы по возрасту – $41,6 \pm 13,7$ лет в 1-й группе, $42,5 \pm 9,1$ лет во 2-й группе ($p = 0,6$). В группе АИЗП преобладали женщины с соотношением ж/м – 61/9, в группе ВГ – 34/48.

Выбор групп обоснован тем, что они составили преобладающие по числу больных когорты в листе ожидания ОТП, что подтверждается данными, представленными на рис. 1.

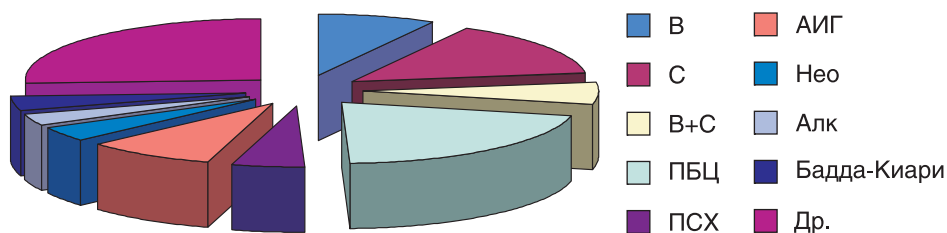


Рис. 1. Распределение основных нозологических вариантов болезней печени

Доля циррозов печени вирусной этиологии достигала величины 40%, совокупность АИЗП – более 30%. Распределение по группам крови представлено на рис. 2.

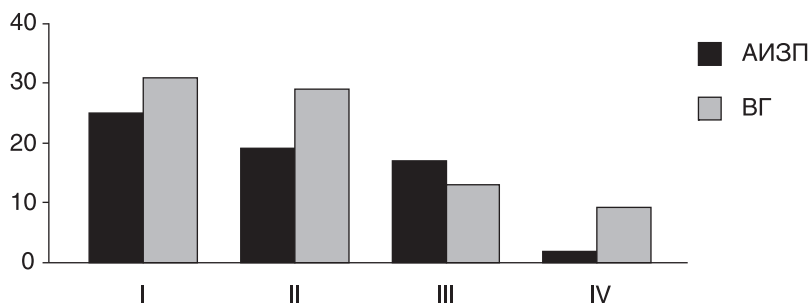


Рис. 2. Распределение по группам крови у больных в листе ожидания ОТП в зависимости от типа патологии (АИЗП – аутоиммунные болезни печени, ВГ – вирусные гепатиты)

Больные в листе ожидания наблюдались динамически не реже 1 раза в 2–3 месяца. Всем проводилось исследование крови: клинический анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма.

Прогноз выживаемости в листе ожидания определяли по шкале MELD. Формула расчета учитывает содержание билирубина, креатинина в сыворотке крови и расчетное значение МНО:

$MELD = 0.957 \times \text{Loge} (\text{креатинин мг/дл}) + 0.378 \times \text{Loge} (\text{билирубин мг/дл}) + 1.120 \times \text{Loge} (\text{МНО}) + 0.6431$ [Merion R.M. et al., 2011].

При динамическом наблюдении использовали показатель дельта MELD, изучали индивидуальную динамику показателя.

Из 144 больных 57 была выполнена ОТП, из них 27 реципиентов с АИЗП в анамнезе (3-я исследуемая группа) и 30 реципиентам с циррозом печени вирусной природы в анамнезе (4-я группа сравнения), группы были сопоставимы по основным демографическим характеристикам (табл. 1).

Сроки наблюдения составили от 12 до 120 мес. после ОТП.

Таблица 1

Характеристика 3-й и 4-й групп больных

	Средний возраст	Максимальный возраст	Минимальный возраст	Женщин	Мужчин
3-я группа	23,0 ± 15,8	62	17	25	2
4-я группа	38,9 ± 11,7	57	21	11	18
	p > 0,05				

Все больные получали индукционную терапию препаратами моноклональных антител (даклизумаб или базиликсимаб), в раннем послеоперационном периоде – трехкомпонентную иммуносупрессию: ингибиторы кальциневрина (такролимус или циклосприн А), микофенолаты или иму-

ран, преднизолон. В сроки от 3 до 6 месяцев после операции больным с циррозом печени вирусной этиологии в анамнезе отменяли преднизолон, а у больных с АИЗП сохраняли трехкомпонентную терапию до 12 месяцев. В дальнейшем, на основании клинического и морфологического исследований проводили коррекцию иммуносупрессии, у больных 4-й группы стремились к монотерапии ингибиторами кальциневрина, а у больных 3-й группы сохраняли двухкомпонентную иммуносупрессию при отсутствии признаков отторжения или рецидива заболевания в трансплантате.

Рецидив болезни в трансплантате подозревали на основании изменений биохимических показателей сыворотки крови, увеличения титра соответствующих типов аутоантител. Окончательный вывод делали только по данным морфологического исследования трансплантата.

Общеклинические методы

Методы лабораторной диагностики

Исследование проб крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Arhitect c8000 (Abbot), фотометрическим и потенциометрическим методами. Определение основных показателей функционального состояния почек проводили на том же приборе.

Наличие гепаторенального синдрома устанавливали на основании международных критериев [Charles K.F. et al., 2007]. Учитывали наличие хронической болезни печени с печеночноклеточной недостаточностью и портальной гипертензией, содержание креатинина в сыворотке крови более 150 мкмоль/л, клиренс креатинина менее 40 мл/мин, определенный из суточной мочи, протеинурию более 500 мг/сут при исключении гломерулярной болезни почек.

Мониторинг концентрации в крови ингибиторов кальциневрина проводили на автоматическом анализаторе Arhitect c8000 (Abbot) иммунофлуоресцентным методом. Определяли концентрацию циклоспорина в плазме крови больных после трансплантации печени через 2 ч после приема препарата (точка C2), а такролимуса через 12 ч после последнего приема препарата (точка C0). Целевой концентрацией такролимуса в отдаленные сроки после операции считали 3–5 нг/мл, циклоспорина 300–400 нг/мл.

Диагностику АИЗП проводили на основании скрининга аутоиммунных болезней печени методом непрямой иммунофлуоресценции (табл. 2). При выявлении диагностически значимых титров антинуклеарных антител проводили углубленное исследование с целью верификации типа АИГ.

При подозрении на рецидив АИЗП в трансплантате также выявляли титры аутоантител, учитывая, что изолированное повышение титра аутоантител может сохраняться в посттрансплантационном периоде, не оз-

начая рецидива болезни при ПБЦ. Тем не менее, мониторинг их титра проводили всем больным после ОТП с АИЗП в анамнезе с частотой не реже 1 раза в 12 месяцев. Кроме того, определение аутоантител считали необходимым для дифференциальной диагностики отторжения и развития АИЗП в трансплантате *de novo*.

Методы инструментальной диагностики

Ультразвуковое и доплерографическое исследование печени и ее сосудистой системы проводилось на аппарате Logiq 9 (GE Medical Systems) с использованием мультисекторных конвексных датчиков 2–5,2 МГц. На этапе ожидания трансплантации печени УЗ-исследование проводилось не реже одного раза в три месяца. После ОТП по данным УЗ-исследования оценивали наличие или отсутствие перипортальной инфильтрации, значения индекса резистивности в печеночной артерии, как маркеров отторжения, не придавая им определяющего значения. Перипортальная инфильтрация более 0,6–1 см позволяла заподозрить отторжение. Значения R_i (индекс периферического сопротивления) до 1,0 и R_i до 0,75 считали нормальными, увеличение этих значений косвенно свидетельствует о воспалении, что может свидетельствовать об отторжении или отеке ткани печени.

Таблица 2

Диагностические титры аутоантител при скрининге

Фактор	Нормальный титр
Антинуклеарный фактор на клеточной линии HEp-2 с определением 6 типов свечения	<1:160
Антитела к гладким мышцам (F-актину) методом нРИФ на тройном субстрате	<1:20
Антитела к митохондриям (M1-M9) методом нРИФ на тройном субстрате	<1:20
Антитела к обкладочным клеткам желудка методом нРИФ на тройном субстрате	<1:20
Антитела к микросомам печени-почки (LKM-1) методом нРИФ на тройном субстрате	<1:20
Антитела к антигенам аутоиммунных заболеваний печени (PDC-AMA-M2, M2-3E, SLA/LP, LC-1, LKM-1, Sp-100, PML, gp210, Ro-52)	Антитела к SLA/LP, LC-1, LKM-1, M2-3E, Sp-100, PML, gp210, PDCAMA-M2 не обнаружены

Всем потенциальным реципиентам выполнялось КТ-исследование с использованием трехфазного протокола сканирования на четырехслойном томографе Somatome «Volume Zoom» (Siemens, Германия) и на

64-слойном аппарате «Aqilion One» (Toshiba, Япония). Массив полученных данных просматривали в интерактивном режиме, затем полученные данные подвергали многоплоскостным переформатированиям, выполняли 3D реконструкции с помощью VRT и MIP протоколов, сегментацию и удаление костных структур выполняли в полуавтоматическом режиме. В посттрансплантационном периоде использовали те же принципы выполнения КТ. Выявляли особенности кровоснабжения печени у каждого реципиента для планирования способа оперативного вмешательства, очаговые образования в ткани печени, меняющие тактику лечения больных в листе ожидания ОТП. Кроме того, КТ проводили все реципиентам в посттрансплантационном периоде не реже 1 раза в год с целью выявления очаговых образований, уточнения состояния сосудистого русла и собственно паренхимы печени.

МР-томография применялась в комплексном обследовании больных при внесении в лист ожидания, если выявляли очаговые образования в печени другими методами, то использовали исследование с контрастом примовист. Кроме того, МР-холангиография становилась основным методом неинвазивной диагностики анастомотических стриктур желчных протоков после ОТП, дифференциальной диагностики неанастомотических стриктур, а также при обследовании потенциального кандидата с ПСХ.

Методы морфологической оценки биоптатов печени

Биопсию трансплантата печени выполняли всем больным после ОТП через 12, 36 и 60 месяцев после операции. При развитии дисфункции трансплантата печени также выполняли биопсию. Оценивали данные световой микроскопии с применением окрасок гематоксилин-эозин, Шик, Ван-Гизон, и иммуногистохимического исследования трансплантата.

Наличие или отсутствие отторжения оценивали по критериям Banff-классификации, пересмотр 1999 г. [Ormonde D.G. et al., 1999; Sebagh M. et al., 2002]. При этом определяли степени тяжести острого отторжения: пограничное, умеренное, выраженное, тяжелое.

Поскольку длительное функционирование трансплантата печени может осложняться рецидивом основного заболевания, по поводу которого выполнена трансплантация, сложность диагностики заключалась в морфологическом сходстве рецидива с реакцией хронического отторжения. В пользу хронического отторжения свидетельствовали признаки артериолопатии или уменьшение количества желчных протоков (дуктопения), тем не менее, иногда практически невозможно дифференцировать отторжение и рецидив аутоиммунной болезни печени [Faust T.W., 2001].

Для рецидива ПБЦ в трансплантате характерны те же гистологические признаки, что и при болезни нативной печени. Поскольку связь между титром АМА и наличием рецидива ПБЦ не установлена, роль морфоло-

гического исследования возрастает, тем более, что гистологические признаки рецидива могут предшествовать клиническим симптомам.

Для рецидива АИГ характерна связь биохимической, иммунологической (титр ANA и др. специфических аутоантител) активности и выраженности гистопатологических процессов. Как правило, рецидив АИГ выявляли по данным биопсии трансплантата, которые получали на фоне других клинических проявлений.

Рецидив ПСХ дифференцировали с поздними стриктурами желчных протоков и постишемическими холангитами. Собственный опыт заключается в анализе одного случая рецидива ПСХ у пациентки, не соблюдавшей режим приема иммуносупрессивных препаратов, продемонстрировавшей криз отторжения, подтвержденный гистологически. Терапия стероидами в дальнейшем могла стимулировать развитие рецидива ПСХ.

Дифференциальная диагностика дисфункции трансплантата печени основывалась и на сопоставлении данных клинических, биохимических, серологических и морфологического исследований.

Методы изучения роли стволовых гемопоэтических клеток в периферической крови в раннем посттрансплантационном периоде

Для изучения роли СКГ в прогнозировании раннего послеоперационного периода в исследование было включено 32 больных после трансплантации печени (22 женщины, 14 мужчин), выполненной в РНЦПХТ, 26 больных составили контрольную группу, из них 3 после обширного хирургического вмешательства на сердце и почке, и 23 условно здоровых человека без заболеваний печени. Каждый из 32 пациентов основной группы и 3 пациента после обширного оперативного вмешательства из контрольной группы были обследованы в течение 30–40 дней после операции со средней частотой обследования 2 раза в неделю. Каждое обследование включало определение следующих клеточных маркеров мононуклеаров крови: CD3, CD4, CD8, CD11b, CD19, CD25, CD31, CD34, CD45, CD56, CD62, CD133 (прямым иммунофлуоресцентным методом с антителами производства «Dako») и CD154, HLA-DR, терминальная дезоксиинуклеотидил трансфераза -TdT, васкулярно-эндотелиальный фактор роста – VEGF (непрямым методом с антителами «Dako», «BD», «Сорбент»). Измерения проводили на проточном цитофлюориметре FACScan, Becton Dickinson в режиме двойной метки (CD3/31, CD8/11b, CD 4/62, CD34/133, CD19/56) и одиночной (HLA-DR, CD154, VEGF, TdT). Фракцию мононуклеаров для всех исследований выделяли из гепаринизированной крови центрифугированием на градиенте фиколл-верографин (1,077 г/мл).

Измерения колебаний СКГ крови, ответственных за ангиогенез, проводили на том же проточном цитофлюориметре FACScan (Becton Dickinson), суммируя показатели трех зон в координатах прямого и бокового рассеивания, а именно, лимфоцитов, моноцитов и расположенным

над моноцитарной зоной поле с высоким боковым рассеянием. Число клеток, имеющих тот или иной маркер (CD) относили к общему количеству моноклеаров, концентрацию моноклеаров (Mn) выражали в 10^6 на мл³. Эффективность трансформации прогениторных клеток в общий пул моноклеаров оценивали с помощью расчетного коэффициента $R = Mn/CD34$.

Материалы и методы психологического исследования

Психологическое исследование заключалось в изучении внутренней картины болезни у больных выделенных групп, как до, так и после трансплантации печени, в зависимости от нозологического варианта предшествующей патологии (АИЗП и ВГ). Исследование было разделено на три этапа. На первом этапе изучали особенности психологического статуса пациентов изучаемых групп до трансплантации, затем оценивали внутреннюю картину болезни после ОТП непосредственно перед выпиской из стационара. На завершающем этапе проводили психологическое обследование больных в отдаленные сроки, примерно через 12 месяцев после ОТП.

Всего обследованы 129 человек, из них 75 – до ОТП на этапе внесения в лист ожидания, и 54 – после ОТП, в сроки 22 ± 9 суток после операции, а 20 – через 12 мес. (по 10 больных из каждой группы) (табл. 10).

Был использован метод формализованного интервью, представляющий собой одно из основных направлений скрининговых клинических и экспериментально-психологических исследований. Полученные показатели в дальнейшем подвергались математико-статистической обработке и содержательной интерпретации.

Опросник невротических расстройств симптоматический (ОНР-СИ) применяли для количественного определения степени выраженности невротических расстройств («SIO») [Aleksandrowitch et al., 2007]. Опросник состоит из 158 пунктов, в которых отражены основные невротические жалобы. Все пункты опросника сгруппированы в 13 шкал, соответственно основным невротическим синдромам: тревожно-фобические, депрессивные расстройства, аффективная напряженность, расстройства сна, аффективная лабильность, астенические расстройства, сексуальные расстройства, нарушение социальных контактов, ипохондрические расстройства, ананкастические расстройства, сомато-вегетативные расстройства.

Компьютерная версия этого опросника разработана в лаборатории клинической психологии Психоневрологического института им. Бехтерева [Вассерман Л.И., Щелкова О.Ю., 2003].

Интегративный тест тревожности (ИТТ) [Бизюк А.П., Вассерман Л.И., Иовлев Б.В., 1997] содержит шкалы, описывающие личност-

ную тревожность и ситуативную тревогу по таким структурным компонентам, как эмоциональный дискомфорт, астенический и фобический компоненты, тревожная оценка перспектив и социальная защита, а также общий показатель. Поученные шкальные значения выражают в стандартах.

Методика диагностики типов отношения к болезни (ТОБОЛ) [Вассерман Л.И., Иовлев Б.В. Карпова Э.Б., Вукс А.Я., 1987, 2002]. В основе методики лежит концепция психологии отношений В.Н. Мясищева, типология реакций личности на болезнь, при этом выделены гармоничный, эргопатический, анозогнозический, тревожный, ипохондрический, неврастенический, апатический, меланхолический, сенситивный, эгоцентрический, паранойяльный, дисфорический типы отношения к заболеванию.

Методика исследования качества жизни (SF-36) представляет собой краткий общий опросник оценки статуса здоровья. Опросник является русскоязычным аналогом опросника SF-36 [Ware J.E., Sherbourne C.D., 1992], прошедшим клинические испытания и рекомендованным к применению для оценки качества жизни пациентов, преимущественно с соматической патологией [Новик А.А., Ионова Т.И., 2002]. Исследовали физическое функционирование, отражающее степень, в которой здоровье лимитирует физические нагрузки, такие как самообслуживание, ходьба, подъем по лестнице, переноска тяжестей и т. д. Степень влияния физического состояния на работу, выполнение будничной деятельности, степень влияния боли на способность заниматься нормальной деятельностью. Оценка пациентом своего состояния здоровья в настоящий момент и перспективы лечения; сопротивляемость болезни может характеризовать общее состояние здоровья.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили, применяя табличный редактор Excel, используя t-критерий Стьюдента для оценки вероятности различий (p) между средними величинами $M \pm m$, статистический межгрупповой анализ данных проводился с помощью двухстороннего критерия Стьюдента, внутригрупповой парного критерия Стьюдента. При значениях $p < 0,05$ различия считали достоверными. Для описания и статистических оценок кинетических зависимостей использовали метод аппроксимации различными функциями в программе «Microsoft Office Excel 2007».

Использовали методы непараметрической статистики для выявления различных зависимостей качественных и количественных показателей, в частности, для внутригрупповых корреляций коэффициент корреляции Спирмена, для межгрупповых зависимостей коэффициент корреляции Манна–Уитни с доверительным интервалом 0,95.

Актуральную выживаемость трансплантата рассчитывали по Kaplan–Meier. Данные были обработаны при помощи статистического пакета программ Statistica for Windows, v. 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика жалоб

В терминальной стадии болезни печени жалобы и их частота у больных в листе ожидания ОТП представлены в табл. 3. Общую слабость испытывали большинство больных, независимо от вида патологии печени. Желтуха достоверно чаще отмечалась у пациентов исследуемой группы: у 8 из 82 больных ВГ (9,7%), и у 38 из 62 больных АИЗП (61,3%). Кожный зуд беспокоил только 3,5% пациентов из группы сравнения, и 54,5% больных исследуемой группы, в основном, страдающих ПБЦ. Напротив, увеличение живота за счет асцита отмечали преимущественно больные из группы сравнения, 77 из 81 (92,7%) с ВГ, и 42 из 62 (42%) больных исследуемой группы. При оценке межгрупповых различий использовали непараметрический коэффициент Манна–Уитни. Слабость была общим симптомом в обеих группах, желтуха и кожный зуд оказались характерными преимущественно для больных АИЗП, в частности, с холестатическим вариантами болезни ($Z = -5,4$ и $5,6$, $p = 0,0001$ соответственно), асцит более характерен для больных ВГ ($Z = 5,6$, $p = 0,0001$).

Таблица 3

Основные жалобы больных изучаемых групп

Жалобы	Больные АИЗП, %	Больные ВГ, %	p
Общая слабость	98,0	92,5	>0,05
Желтуха	61,3	9,7	<0,0001
Кожный зуд	54,5	3,5	<0,0001
Асцит	42	92,7	<0,001

В терминальной стадии болезни активная поддерживающая терапия позволяет улучшить состояние потенциального реципиента, так увеличение дозы или назначение препаратов УДХК, способствовали уменьшению выраженности кожного зуда у 30% больных ПБЦ. Сочетание медикаментозной коррекции и психологического воздействия, в частности, аутотренинга, позволяло снизить выраженность жалоб у 50% пациентов, получивших такое лечение.

Частота госпитализаций у больных ВГ оказалась большей, чем у больных АИЗП ($2,4 \pm 1,0$ против $1,8 \pm 0,6$; $p < 0,01$). Причинами госпитализаций при ВГ были нарастание симптомов портальной гипертензии, фор-

мирование резистентного асцита, кровотечения из ВРВП, реже – эпизоды печеночной энцефалопатии. При АИЗП госпитализация осуществлялась при инфекционных осложнениях, прогрессировании холестатического синдрома.

Схема обследования больных АИЗП в листе ожидания

Разработанная схема обследования и алгоритм наблюдения больных АИЗП в листе ожидания, представленные на рис. 3 основана на опыте изучения данных более 300 потенциальных реципиентов ОТП.

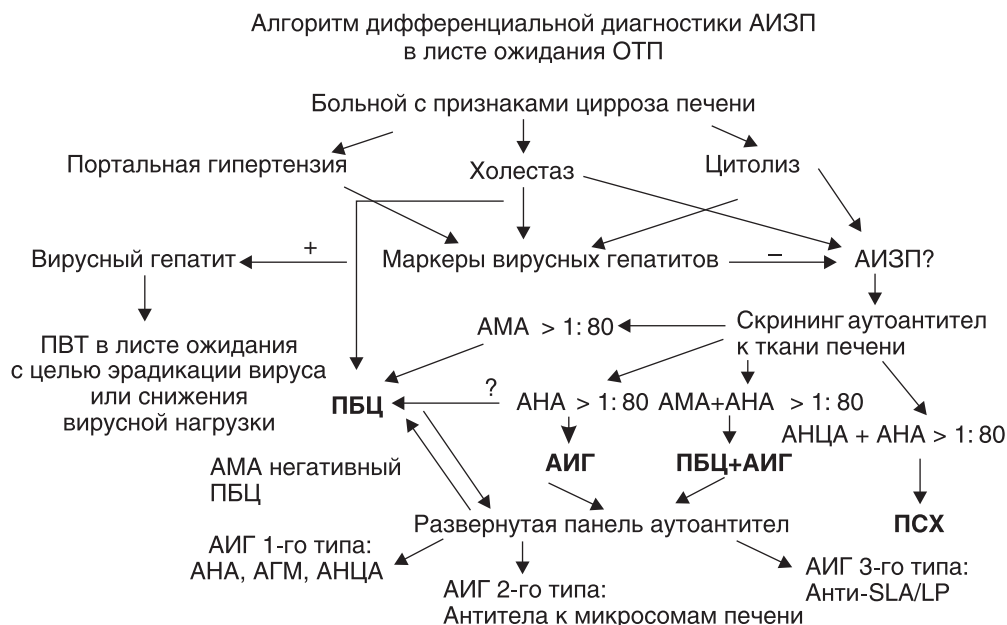


Рис. 3. Алгоритм обследования больного с циррозом печени при подозрении на АИЗП:

ПБЦ – первичный билиарный цирроз, АИГ – аутоиммунный гепатит,
АМА – антимитохондриальные антитела, АНА – антиядерные антитела,
АГМ – антитела к гладким мышцам, АНЦА – антитела к цитоплазме нейтрофилов

При исключении вирусного гепатита и наличии признаков аутоиммунного поражения печени определение уровня иммуноглобулинов не позволяет дифференцировать тип АИЗП, поэтому предложенная схема не требует изучения их в сыворотке крови. Обнаружение диагностического титра и определенного вида аутоантител является современным, надежным и высокоспецифичным методом определения и дифференциальной диагностики АИЗП. Представленный алгоритм позволяет упростить об-

следование и быстро определить вариант АИЗП. Выявленный вариант АИЗП определяет дальнейшую тактику лечения в листе ожидания.

В результате применения алгоритма удалось впервые установить правильный диагноз 16 больным (15%), обратившимся с диагнозом «неверифицированный вирусный гепатит» или «криптогенный цирроз печени». Им было назначено лечение, которое у 50% больных позволило стабилизировать состояние, уменьшить показатель MELD, и таким образом, улучшить прогноз в листе ожидания.

Результаты ретроспективного анализа исходов АИЗП в листе ожидания

При ретроспективном исследовании 62 больных (1-я исследуемая группа) с терминальной стадией АИЗП было выявлено, что длительность болезни печени с появления ее первых симптомов до верификации диагноза была от 0,5 до 20 лет ($5,0 \pm 3,5$ лет), сроки течения заболевания до терминальной стадии на фоне лечения, когда требовалась трансплантация печени, составили от 0,5 до 10 лет ($3,7 \pm 3,1$ г.). Продолжительность болезни до летального исхода – $4,1 \pm 3,8$ лет. Продолжительность естественного течения болезни до верификации диагноза оказалась значительно большей, чем в опубликованных в зарубежных исследованиях, что свидетельствует о поздней диагностике и не вполне адекватном лечении АИЗП. Аутоиммунные заболевания печени, находясь на 5–6-м месте среди причин выполнения ОТП в странах Западной Европы и США [Delvin J., 1999; Mottershead M., Neuberger J., 2008], в настоящем исследовании оказались второй по значимости группой болезней после вирусных гепатитов, служивших показанием к ОТП. Это связано с поздней диагностикой АИЗП, недостаточной оснащенностью диагностическими средствами, а также ограниченностью терапевтических возможностей. Известно, при поздней диагностике АИЗП быстрее прогрессируют до той стадии, когда возникают показания к ОТП. Во-вторых, в современные схемы лечения АИЗП входят те препараты, которые пока малодоступны в России из-за их высокой стоимости или отсутствия регистрации на фармацевтическом рынке.

Впервые выявленное аутоиммунное заболевание печени в стадии цирроза, к сожалению, невозможно длительно лечить, но разработанные схемы терапии в сочетании с индивидуальным подходом к пациенту позволяют продлить жизнь больному в листе ожидания. Больные с АИГ при наличии гистологической и биохимической активности требуют продолжения иммуноподавляющего лечения, индивидуальный подход позволяет подобрать оптимальную схему лечения. Больные ПБЦ и ПСХ продолжают принимать препараты УДХК, несмотря на отсутствие убедительных доказательств их эффективности.

Больные из двух самых многочисленных групп из листа ожидания ОТП, имеют принципиальные отличия в клинической картине болезни и ряд отличий в психоэмоциональном статусе. Период ожидания протекает по-разному, требуется различная терапия.

Частота летальных исходов в листе ожидания оказалась достоверно выше во второй группе пациентов ($p < 0,001$) (табл. 4). Средняя частота кровотечений, как фатальных осложнений цирроза печени, составила в 1-й группе $0,8 \pm 0,6$, а во 2-й группе $1,4 \pm 1,0$ ($p = 0,0006$). Корреляционный анализ подтверждает положение о том, что кровотечения чаще встречаются у больных ВГ ($R = 0,17$; $p = 0,035$). Также на одного больного ВГ приходится больше эпизодов кровотечения из варикозных вен пищевода, чем у больных АИЗП ($R = 0,25$; $p = 0,002$).

Распределение показателей MELD в листе ожидания, рассчитанных при внесении в лист ожидания ОТП представлено в табл. 5.

При проведении корреляционного анализа в группах ожидания ОТП также не было выявлено статистически значимых зависимостей показателя MELD и его динамики от вида патологии печени ($R = 0,8$; $-0,1$; $p = 0,3$; $0,6$). При определении коэффициента Манна–Уитни определились достоверные различия в значении MELD ($Z = 2,64$; $p = 0,008$), т. е. показатель выше в группе АИЗП. Среди пациентов, не доживших до ОТП, динамика показателя была более стремительной, т. е. погибшие кандидаты имели более быстрое прогрессирование болезни, независимо от вида патологии печени.

Таблица 4

**Структура летальности в листе ожидания
у больных изучаемых групп**

Причины смерти	1-я группа (АИЗП) Число / %	2-я группа (ВГ) Число / %
Кровотечение из ВРВП	2/3,2	7/8,5
Прогрессирование болезни	7/11,3	14/17,1
Сепсис	1/1,6	2/2,4
Неизвестна	1/1,6	
Всего	11/17,7	23/28

Таблица 5

**Распределение по показателю MELD
в листе ожидания**

Показатель	1-я группа, чел.	2-я группа, чел.
5–12	30	56
12–20	23	18
>20	9	8
Среднее значение	12 ± 4	11 ± 3

Больные АИЗП на этапе наблюдения в листе ожидания получали симптоматическое лечение в зависимости от вида болезни: при ПБЦ 100% больным назначали препараты урсодезоксихолевой кислоты (УДХК), при АИГ в стадии активности, определяемой ростом показателей цитолиза, преднизолон и/или азатиоприн. Из 3 больных с ПСХ трансплантация печени была выполнена лишь в одном случае.

Было установлено, что гепаторенальный синдром (ГРС) достоверно чаще определял летальный исход в листе ожидания, независимо от типа патологии ($R = -0,46$; $p < 0,0001$), хотя в группе ВГ ГРС регистрировали чаще ($R = 0,6$; $p < 0,0001$).

Активная терапия при наблюдении за больными в листе ожидания ОТП позволила в 30% случаев снизить показатель MELD и улучшить, таким образом, краткосрочный прогноз для жизни потенциального реципиента в листе ожидания. Среднее значение показателя в группе удалось снизить с 16 ± 4 при внесении в лист ожидания до $13 \pm 3,2$ через 3 месяца наблюдения.

На основании изучения динамики клинико-лабораторных показателей у больных АИЗП, ожидающих ОТП, был разработан алгоритм лечебной тактики, в зависимости от варианта заболевания (ПБЦ, АИГ или ПСХ), который представлен на рис. 4.

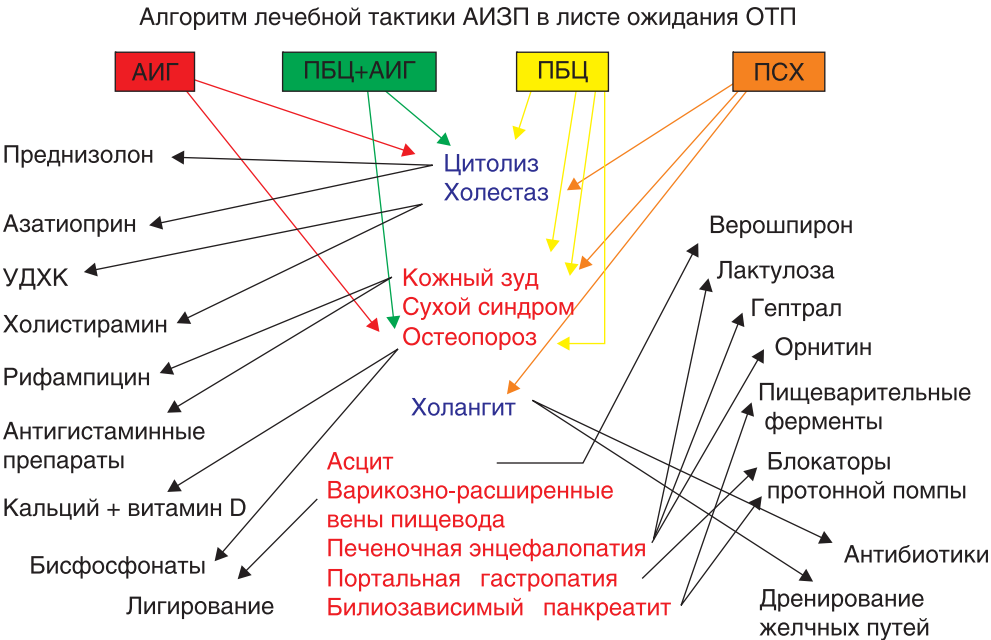


Рис. 4. Схема лечебной тактики при АИЗП в терминальной стадии

Результаты общеклинического исследования больных после ОТП

Индекс массы тела (ИМТ), определенный непосредственно перед операцией трансплантации печени, составил в 3-й группе (больные АИЗП после ОТП) $23,4 \pm 4,9$, в 4-й группе (больные ВГ после ОТП) – $22,7 \pm 1,5$ ($p = 0,5$). Таким образом, он не отличался от нормальных значений, и не было достоверных различий среди больных изучаемых групп. Отслеживать дальнейшую динамику ИМТ не представилось целесообразным, поскольку значительных изменений его не зафиксировали.

Расчетный показатель MELD перед операцией оказался выше в группе больных, которым была выполнена ОТП, по сравнению с группой из листа ожидания. Так в группе АИЗП показатель оказался 18 ± 6 (в листе ожидания 12 ± 4), в группе ВГ – 14 ± 4 (в листе ожидания – 11 ± 3), причем межгрупповые различия были достоверными ($p < 0,005$). Средний срок ожидания ОТП составил в 3-й группе $10,8 \pm 4,6$ мес., в 4-й группе – $8,9 \pm 4,4$ мес. ($p < 0,05$). Срок ожидания в 3-й группе оказался больше, а среднее значение показателя неотложности выполнения ОТП – меньше.

Средние сроки госпитализации в группе АИЗП составили $35,6 \pm 9,5$ дней, в группе ВГ – $39,9 \pm 19,9$ дней ($p > 0,05$), сроки пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии оказались сопоставимыми: в 3-й группе – $8,4 \pm 5$ дней, в 4-й группе – $11,3 \pm 4,4$ ($p > 0,05$).

Из 27 больных исследуемой группы больных с АИЗП умерли после ОТП 5 больных (из них в отдаленном периоде – 1), из 30 больных 4-й группы – 2 больных. Причинами смерти после ОТП больных АИЗП стали: первично нефункционирующий трансплантат (ПНФТ) – 1, тромбоз артерии трансплантата – 1, инфекции (сепсис) – 3. Через 9 месяцев после ОТП 1 больная погибла от быстро прогрессирующего карциноида двенадцатиперстной кишки с развитием канцероматоза брюшины. Причинами смерти больных ВГ стали инфекционные осложнения. Кризы отторжения, подтвержденные биопсией, в сроки до 3 мес. после ОТП зарегистрированы у 8 больных из 3 группы и у 10 больных из 4 группы, что составило соответственно 30 и 33% ($p > 0,05$). Все кризы носили субклинический и малосимптомный характер с невысокими грациями по критериям Banff (индекс RAI 2–5 баллов), и все оказались стероидозависимыми. Кризы купированы введением солумедрола в режиме пульс-терапии.

Эпизоды острого отторжения в течение 12 месяцев выявлены у 6 больных (22%) из исследуемой группы, в течение 36 месяцев – у 9 (33%). Данные о приросте частоты отторжений в течение 5 лет не могут считаться достоверными, поскольку 5 и более лет живут после ОТП 4 больных из исследуемой группы (14%). В группе сравнения – в течение 12 месяцев кризы отмечены у 6 больных (20%), в течение 36 месяцев – 8 боль-

ных (26%). Таким образом, кризы регистрировались несколько чаще у реципиентов с АИЗП как в первый год после ОТП, так и в течение последующих 36 месяцев. Однако при выявлении межгрупповых различий по частоте отторжения за указанные интервалы времени с определением коэффициента Манна–Уитни достоверных данных не получили (12 мес. – $Z = 1,5$; $p = 0,12$; 36 мес. – $Z = 0,78$; $p = 0,4$). В течение первого года после ОТП в обеих группах кризы регистрировали чаще, чем в последующие временные интервалы.

При наблюдении за реципиентами в сроки до 36 мес. достоверных различий в динамике средних значений основных биохимических показателей функции печени получено не было.

Достоверных различий в выживаемости больных изучаемых групп не выявлено (рис. 5). Показатели выживаемости, превышающей 36 мес. низкие, поскольку большинство пациентов живут менее 3 лет.

Актуальной проблемой для больных изучаемых групп остается рецидив основного заболевания в трансплантате. Частота рецидивов основных заболеваний, приведших к циррозу печени, в 3-й группе составила 19% (5 больных), в 4-й группе – 52% (11 больных), что закономерно, поскольку вирусные гепатиты рецидивируют чаще, чем АИЗП.

Частота реинфекции гепатита В в трансплантате, на фоне применения современных аналогов нуклеозидов (телбивудин, энтекавир) до и после ОТП была минимальной (1%). Рецидивы гепатита С зарегистрированы у 17 больных 4-й группы (89%). Исследование эффективности противовирусной терапии возвратного гепатита С в настоящее время не завершено и не входило в задачи настоящего исследования.

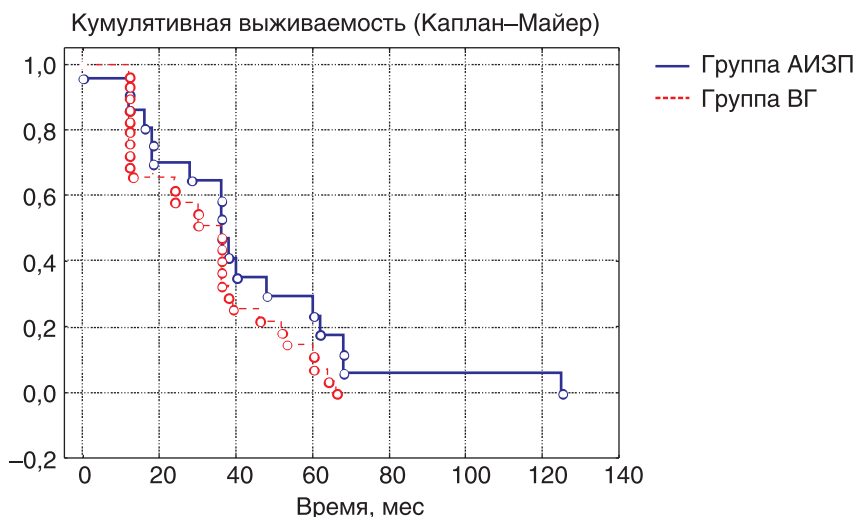


Рис. 5. Кумулятивная выживаемость трансплантатов (по Каплану–Майеру)

В настоящее время единых критериев, прогнозирующих рецидив болезни в трансплантате, не выработано. Оказалось, что длительность заболевания до трансплантации, соотношение полов донор/реципиент, количество HLA совпадений, частота эпизодов отторжения, по данным доступной литературы, не связаны с частотой рецидивов АИГ [Busuttil R.W., 2005.].

По данным настоящего исследования частота рецидивов АИЗП составила в целом 19% (5 больных из 26 исследуемой группы), для ПБЦ – 2 (7,6%), для АИГ – 2 (7,6%)%, оверлап-синдром АИГ + ПБЦ – 1 (3,8%). Сроки выявления рецидивов АИЗП в среднем по группе $30 \pm 10,5$ мес.: АИГ – $30,5 \pm 11,4$ мес., ПБЦ – $33,0 \pm 9,5$ мес. Полученные данные сопоставимы с данными многочисленных исследований [Duclos-Vallee J.C., 2009; Hubscher S.G., 2001]. Рецидив болезни диагностировали на основании клинических, биохимических, серологических и морфологических данных. Дифференциальный диагноз в каждом случае проводился между острым, хроническим отторжением и рецидивом основного заболевания в трансплантате.

Рецидивы АИЗП оказались связаны с кризами отторжения в отдаленном периоде ($R = 0,8$; $p = 0,00002$). Не была доказана связь рецидивов с ранними кризами отторжения ($R = -0,17$; $p = 0,5$). Их развитие в данном исследовании не зависело от показателя MELD, определенного непосредственно перед ОТП ($R = 0,13$; $p = 0,57$).

Частота рецидивов АИЗП в настоящем исследовании не зависела от типа аутоиммунного заболевания ($R = -0,06$; $p = 0,8$), хотя АИГ рецидивировал несколько чаще. На частоту рецидивов АИЗП не влиял тип иммуносупрессии (циклоsporин А или такролимус) ($R = -0,15$; $p = 0,5$), а также от типа иммуносупрессии не зависели частота кризов, зафиксированных в отдаленном периоде после ОТП ($R = -0,1$; $p = 0,6$) и формирование хронического отторжения ($R = -0,18$; $p = 0,4$).

В связи с тем, что не выявлено достоверных различий между влиянием такролимуса и циклоsporина на развитие рецидива болезни [Busuttil R.W., 2005; MacQuillan G.C., Neuberger J., 2003], конверсия с одного препарата представляется нецелесообразной.

Поскольку стриктуры желчных протоков осложняют течение отдаленного посттрансплантационного периода и клинически проявляются синдромом холестаза, дифференциальный диагноз проводился с рецидивом холестатического варианта АИЗП в трансплантате и хроническим отторжением. В настоящем исследовании анастомотические стриктуры были обнаружены у 5 больных из обеих групп, что составило 10%. Их развитие не было связано ни с наличием кризов отторжения ($R = 0,08$; $p = 0,54$), ни с наличием АИЗП в анамнезе ($R = 0,09$; $p = 0,57$).

Результаты морфологического исследования трансплантатов печени

Всего в анализ включены данные гистологического исследования, полученные от 27 больных АИЗП после ОТП.

Выявлено 5 рецидивов АИЗП в трансплантате, из них 2 поздних рецидива ПБЦ. Один был обнаружен при протокольной биопсии через 3 года после ОТП, а затем подтвержден через 5 лет. Гистологические проявления начальных стадий ПБЦ, очевидно, трудно обнаруживать в трансплантате, поскольку больные получают иммуноподавляющее лечение.

На представленных рисунках (рис. 6–9) продемонстрированы изменения, характерные для нерезко выраженной реакции отторжения трансплантата (повреждение билиарного эпителия, сосудов портальных трактов, центральных вен). Вместе с тем изменения билиарного эпителия могут быть характерны для начальных стадий первичного билиарного цирроза. Гистологическая активность гепатита по R.G. Knodell (1981) 11 баллов, по METAVIR – A3, фиброз по R.G. Knodell (1981) 1 балл, по METAVIR – F1.

В 2 случаях (11%) определен рецидив АИГ, на рис. 10–13 представлены проявления рецидива АИГ

Наибольшие изменения выявляются при подозрении на рецидив АИГ в паренхиме печеночной ткани – в виде выраженного повреждения стенок центральных вен и централобулярного повреждения гепатоцитов. Наименьшие изменения выявляются со стороны желчных протоков – в виде слабо выраженного преимущественно альтеративного процесса без дуктопии и со стороны гепатоцитов перипортальных отделов печеноч-

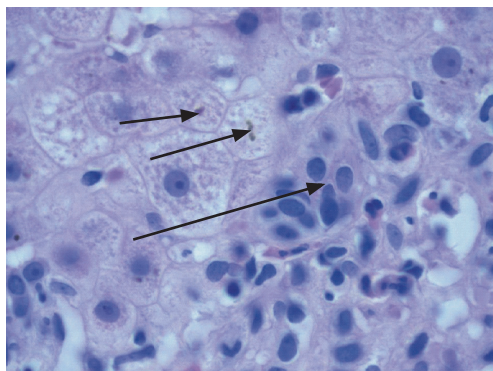


Рис. 6. Альтеративный холангиолит и перипортальный внутриклеточный холестаз. Гематоксилин-эозин. $\times 1000$

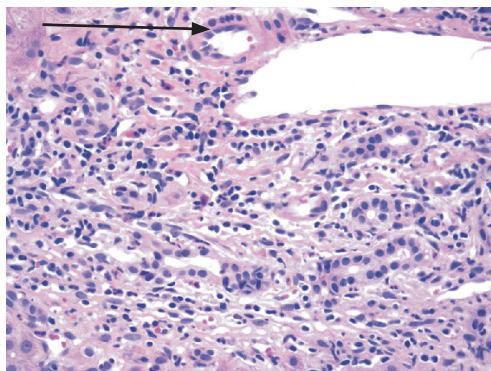


Рис. 7. Выраженные альтеративно-пролиферативные изменения желчных протоков и стенок сосудов (стрелка). Гематоксилин-эозин. $\times 400$

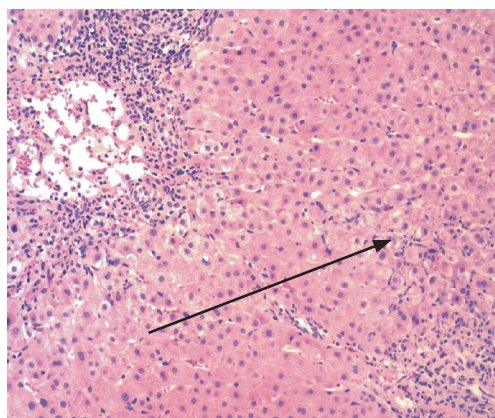


Рис. 8. Обширные ступенчатые некрозы и формирование мостовидного некроза. Гематоксилин и эозин. $\times 200$

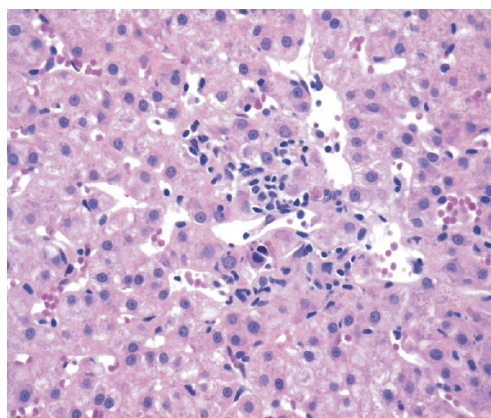


Рис. 9. Повреждение стенки центральной вены. Гематоксилин и эозин. $\times 400$

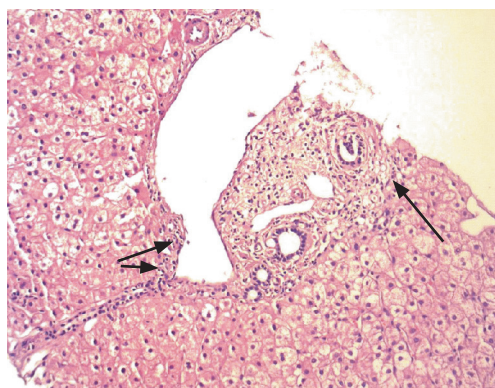


Рис. 10. Стрелками обозначена перипортальная некро-воспалительная активность. Гематоксилин-эозин. $\times 200$

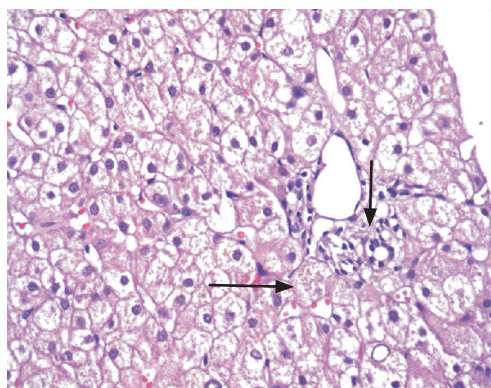


Рис. 11. Тяжелые альтеративные изменения гепатоцитов в центролобулярных отделах печеночной дольки. Гематоксилин-эозин. $\times 400$. Стрелками указан порталный тракт и пигментированный гепатоцит

ных долек – в виде слабо выраженного повреждения. Такие изменения носят, несомненно, иммунный характер. Вместе с тем, выявляемые особенности, вероятно, могут являться морфологическим проявлением отторжения трансплантата.

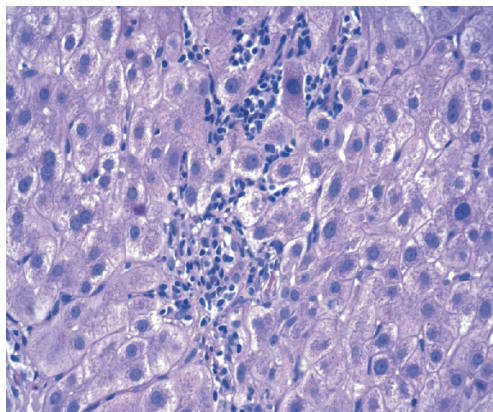
Изменения, характерные для аутоиммунного гепатита и не типичные для реакции отторжения, в сочетании с выражением аутоантител и цитолизом, свидетельствуют о его рецидиве (рис. 12–13).

Результаты изучения роли СГК крови в раннем послеоперационном периоде

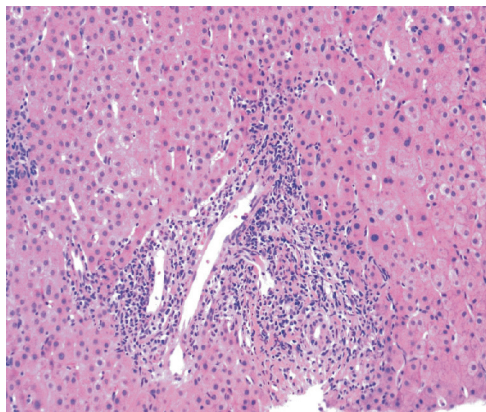
В группе условно здоровых лиц, обследованных в поликлинических условиях, концентрация СГК в крови составляет $0,15 \pm 0,016\%$ во фракции мононуклеаров. Изучение динамики уровня СГК в крови пациентов после обширного хирургического вмешательства выявило первоначальное падение их концентрации до $0,1 \pm 0,021\%$ ($p = 0,04$) и последующее восстановление до $0,175 \pm 0,017\%$ ($p = 0,016$) к 6 ± 2 суткам и до $20,8 \pm 2,1$ суткам после операции.

Результаты измерений СГК в группе больных после ОТП анализировали в пределах двух 99% доверительных интервалов времени: 1 – 1–9 суток, и 2 – 10–30 суток.

Индивидуальные изменения уровней СГК были классифицированы путем подбора аппроксимирующих кривых в программе «Microsoft Excel». Такая классификация формы индивидуальных кинетических кривых позволила сгруппировать их в четыре статистически различающихся варианта изменений. Вариант I отличался аномально высоким уровнем



**Рис. 12. «Оплетающие»
инфильтраты
среди групп гепатоцитов
с некробиотическими
изменениями.
Гематоксилин-эозин. $\times 400$**



**Рис. 13. Инфильтрация
портального тракта
и внутридольковые
инфильтраты в трансплантате.
Гематоксилин-эозин. $\times 200$**

нем СГК в обоих интервалах времени, превышая контрольные значения при обширном хирургическом вмешательстве в 5,6 и 3,1 раза соответственно ($p = 0,001$ и $p = 0,001$). Является ли данная аномалия реакцией на трансплантацию или исходно высоким уровнем, существовавшим до операции, неизвестно.

Однако в пользу реактивной природы механизма подъема СГК в варианте I свидетельствует вариант III, при котором еще больший первоначальный подъем СГК сменяется глубоким падением до уровня, в 4 раза меньшего по сравнению с таковым для «хирургического» контроля в соответствующем интервале времени 10–30 суток ($p < 0,001$). Вариант IV, как антипод варианта I, также подтверждает предположение о реактивной природе первоначального подъема СГК в I и III вариантах, так как такой подъем в нем отсутствует, а во втором периоде времени происходит глубокое – в 2,6 раза меньше уровня «хирургического» контроля падение ($p < 0,001$). В варианте II, наиболее часто встречающемся среди обследованных реципиентов, первоначальный подъем показателя имеет место, но он сравнительно невелик, всего в 1,9 раза над уровнем «хирургического» контроля ($p = 0,03$), а во втором временном периоде достоверные отличия отсутствуют ($p = 0,24$).

К 10–30 суткам (второй период) уровни СГК закономерно понижаются от варианта I к варианту II и далее к вариантам III и IV, при этом в варианте I СГК оказываются выше (в 3,5 раза, $p = 0,04$) уровня контроля, обозначенного стрелкой на оси ординат, а в вариантах III и IV – ниже в 3,5 ($p < 0,001$) и в 2,3 раза ($p < 0,001$) соответственно. Из выделенных вариантов, два первых (I и II), характеризовались благоприятным течением послеоперационного периода, а в вариантах III и IV возникали осложнения, обусловленные отторжением или инфекцией, поэтому было сделано предварительное заключение о положительном патогенетическом влиянии циркулирующих СГК на состояние трансплантата печени в раннем послеоперационном периоде. Вероятно, течение раннего посттрансплантационного периода может зависеть от способности кроветворной системы производить СГК для поддержания их концентрации в крови на достаточно высоком уровне, даже в условиях иммунодепрессивной терапии.

Важным элементом субпопуляционного состава в варианте IV оказалось сравнительно низкое содержание фракции CD3+, 31+-клеток, которые относят к ангиогенным Т-клеткам. Содержание клеток, несущих васкулярно-эндотелиальный фактор роста (VEGF) было также снижено в варианте IV. В противоположность этому в варианте IV был повышен уровень происходящих из костного мозга циркулирующих предшественников эндотелиоцитов с двойным маркерами CD133+, CD34+. В совокупности обнаруженные особенности варианта IV можно трактовать, как сдвиг системы сосудообразования («неоангиогенеза») «влево» по сравнению с вариантом II. Такой сдвиг в варианте IV мог быть причиной

относительного перераспределения продукции стволовых гемопоэтических клеток с приоритетом насыщения крови предшественниками эндотелиоцитов с фенотипом CD133+, 34+ в ущерб представительству родоначальных CD34+, 133 – форм. Чтобы точнее оценить направленности зарегистрированных изменений в раннем периоде, были использованы результаты контрольных обследований пациентов через 1–1,5 года после трансплантации печени. В табл. 6 содержатся статистически значимые результаты такого сравнения. При благоприятном варианте II по истечении года после трансплантации показатели VEGF+, CD31+ и РИ более чем в 5 раз понизились, что подтверждает их действительный подъем в раннем посттрансплантационном периоде. В противоположность этому, данные таблицы также дают основание предполагать существование в варианте II и раннего дефицита CD3+, CD8+ 11b- и CD3+, 25+. Увеличение в позднем периоде благоприятного варианта II цитотоксических клеток CD8+ 11b- и CD3+, 25+-клеток с рецепторами к интерлейкину II затрудняет отнесение их к патогенетически негативным параметрам.

Таблица 6

Сравнение средних показателей ($M \pm m$, %) у больных, имеющих II и IV варианты динамики CD34+-клеток с контрольными значениям в отдаленном периоде после трансплантации (К)

	VEGF+	CD3+, 25+	CD8+, 11b+	CD3+, 31+	CD8+, 11b	CD3+
К	0,73 ± 0,1	0,54 ± 0,1	1,62 ± 0,51	4,3 ± 2,7	15,8 ± 3,1	48,4 ± 7,5
II	4,9 ± 1,13	0,03 ± 0,003	0,3 ± 0,18	27,5 ± 4,0	3,6 ± 0,6	27,1 ± 4,35
p	0,004	<0,001	0,03	<0,001	0,002	0,03
	CD34+, 133	HLA	CD8+, 11b+	CD3+, 31+	CD8+, 11b	CD56+
К	0,18 ± 0,039	32,2 ± 8,4	1,62 ± 0,51	4,3 ± 2,7	15,8 ± 3,06	9,8 ± 1,4
IV	0,085 ± 0,029	11,7 ± 4,3	0,057 ± 0,016	17,7 ± 3,2	14,2 ± 2,12	5,9 ± 1,34
p	0,07	0,05	0,01	0,01	>0,05	0,07

В «осложненном» варианте IV ранний период характеризуется недостатком CD34+, 133- СГК, HLA + ранних клеточных форм, Т-супрессоров CD8+, 11b+, а также CD56+ натуральных киллеров и, напротив, некоторым избытком популяции CD31+ ангиогенных Т-клеток. Важно подчеркнуть, что этот «избыток» уступает, однако, по масштабу аналогичным данным в благоприятном варианте II, но он также указывает на общую для двух вариантов особенность, на реактивный подъем уровня CD3+,

31+ ангиогенных лимфоцитов в ранний срок после трансплантации. В отдаленные сроки изначально высокое содержание цитотоксических клеток CD8+ 11b сохраняется, увеличивается концентрация CD56+ натуральных киллеров, что не позволяет однозначно трактовать эти два параметра как способствующие отторжению, поскольку у больных изучаемой группы не было ни клинических, ни морфологических признаков отторжения.

Вторым этапом исследования СГК стало изучение у 25 больных после ОТП субпопуляционного состава клеток крови со средней частотой 2 раза в неделю.

Уменьшение трансформации клеток в мононуклеары представляется негативным признаком при любых соотношениях флюктуирующих значений Mп и CD34. Показательно, что наклон линии зависимости имеет также прогностическое значение, поскольку слегка увеличивается в отдаленном периоде после трансплантации. Так, в среднем через $2,6 \pm 0,8$ года уравнение изменяется в $R = 0,027(CD34)^{-0,956}$ ($R = 0,81 \pm 0,31$, $p = 0,02$). Такое изменение может с определенной вероятностью указывать на некоторое ухудшение состояния реципиентов, поскольку у больных из листа ожидания угол наклона такой аппроксимирующей линии максимален. Снижение R может происходить как при увеличении концентрации CD34 клеток, так и уменьшении числа мононуклеаров Mп. Исходя из предполагаемой роли сосудообразования в поддержании жизнеспособности трансплантата важнейшим показателем, влияющим на величину отношения R, являются клетки с маркером CD133, входящие в состав знаменателя. Сумма клеток CD34+ прямо зависит от количества CD133+-клеток.

На рис. 14 показаны количественные связи между четырьмя основными ангиогенными субпопуляциями крови реципиентов в раннем периоде после ОТП. В условиях «турбулентного» кроветворения циклические изменения концентраций в системе клеток CD133+, 34/CD133+, 34+ и CD3+, 31+ происходят однонаправленно. Обратная направленность установлена в системе CD133-, 34+ и CD3+, 31+.

Признаки турбулентного кроветворения, обнаруживаемые как у больных из листа ожидания, так и после ОТП, могут свидетельствовать о включении механизма пластического поддержания и восстановления печеночной ткани клетками, мигрирующими из костного мозга. В то же время, истощение репродуктивных потенций костного мозга на этапе до трансплантации может в существенной мере снижать возможности такого механизма поддержки функции трансплантата. Исходя из этого, знание текущего состояния процесса, т. е. мониторинг фаз снижения или повышения содержания совокупности ангиогенных клеток в крови у конкретного больного представляется важным. Текущие индивидуальные возможности кроветворения реципиента могут определять и индивидуальный подход к иммуносупрессии.

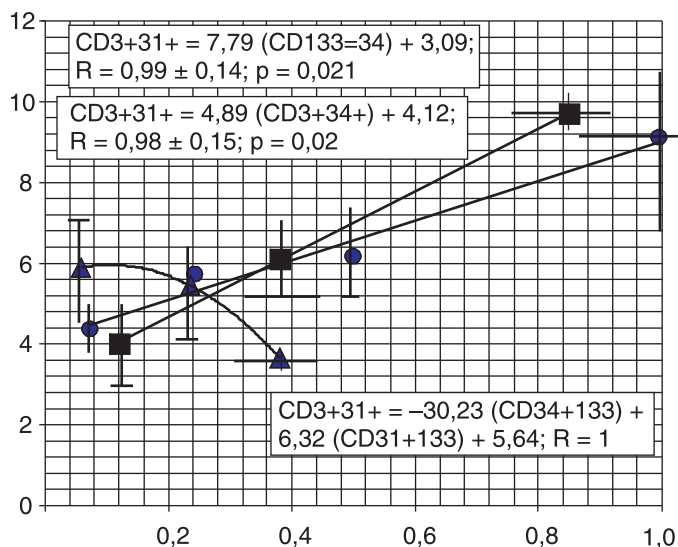


Рис. 14. Количественные связи между общими пулами ангиогенных лимфоцитов CD3+, 31+ и субпопуляций прогениторных клеток у реципиентов в период до 2 месяцев после ОТП

По оси абсцисс: концентрация прогениторных клеток CD133+, 34 – (квадраты), CD133+, 34+ (кружки) и (треугольники) CD133–, 34+ (треугольники), %; по оси ординат: концентрация CD3+, 31+-клеток, %.

Результаты психологического исследования больных в листе ожидания и после трансплантации печени

Жалобы астенического круга (утомляемость, раздражительность) и расстройства сна преобладают по частоте у пациентов до и после ОТП, когда исследование проводили перед выпиской из стационара. Наибольший дискомфорт испытывали те пациенты, которые ожидали ОТП, особенно больные с АИЗП. Прогрессирование заболевания приводит не только к нарушению функций печени, но и к усугублению субъективных переживаний больными своего состояния. Больные отмечали не только раздражительность, они были фиксированы на этом состоянии, нередко даже не пытались совладать с ним, объясняя свое поведение болезнью.

Раздражительность часто связана с прогрессированием заболевания и теми физическими страданиями, которые испытывает пациент (нестерпимый кожный зуд, бессонница и т. д.). В то же время, после ОТП выраженность дискомфорта, следовательно, и жалоб, снижается. Проходит кожный зуд, исчезает асцит, восстанавливается сон и стабилизируется психоэмоциональное состояние. Для пациентов до ОТП не характерны жалобы на болевые ощущения, связанные непосредственно с заболева-

нием, тогда как в раннем послеоперационном периоде эти жалобы закономерно доминируют.

По методике ОНР-СИ высокий уровень неврозоподобных расстройств наблюдался у пациентов с АИЗП до ОТП и у пациентов с ВГ после ОТП (рис. 15). У больных с АИЗП до ОТП уровень выраженности неврозоподобных состояний достоверно превышал показатели у пациентов с АИЗП в анамнезе после ОТП. Особенно выделялись показатели из шкал расстройств сна ($57,8 \pm 7,5$ баллов до ОТП и $45,0 \pm 5,4$ балла после ОТП, $p < 0,05$), астенических расстройств ($52,4 \pm 4,8$ против $38,0 \pm 6,2$ балла, $p < 0,01$), нарушения социальных контактов ($36,3 \pm 5,4$ против $23,0 \pm 4,4$ балла, $p < 0,01$).

У больных с ВГ преобладали по выраженности расстройства сна ($25,1 \pm 6,5$ баллов до ОТП, $53,1 \pm 6,4$ балла после ОТП, $p < 0,001$), астенические ($34,2 \pm 7,0$ против $49,3 \pm 5,2$ баллов, $p < 0,05$) и ипохондрические расстройства ($35,3 \pm 2,8$ против $27,2 \pm 4,5$ балла).

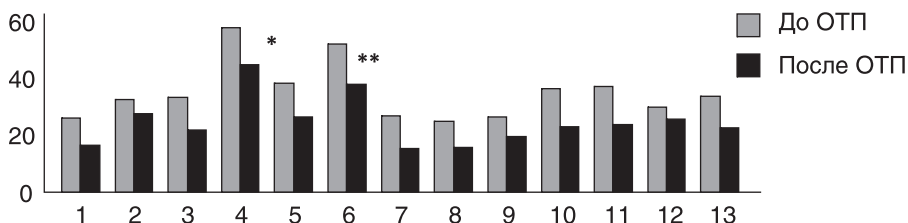


Рис. 15. Выраженность неврозоподобных расстройств по шкалам у пациентов с АИЗП до и после ОТП (в баллах)

Шкалы: 1 – тревожно-фобические расстройства, 2 – депрессивные расстройства, 3 – аффективная напряженность, 4 – расстройства сна, 5 – аффективная лабильность, 6 – астенические расстройства, 7 – сексуальные расстройства, 8 – дереализационные расстройства, 9 – обсессивные расстройства, 10 – нарушения социальных контактов, 11 – ипохондрические расстройства, 12 – ананкастические расстройства, 13 – сомато-вегетативные расстройства

По результатам самооценочной шкалы В. Зунга у пациентов изучаемых групп снижения фона настроения, физиологических признаков депрессии, а также психологических переживаний, сопровождающих депрессивный аффект, не выявлялось.

У пациентов с ВГ после ОТП оказались значительно превышенными показатели личностной тревожности по сравнению с нормативными данными, и данными, полученными при изучении группы больных с ВГ до ОТП. Распределение по шкалам: астенический компонент ($5,6 \pm 2,0$ до ОТП, $7,6 \pm 1,2$ станайнов после ОТП) эмоциональный дискомфорт ($5,5 \pm 1,5$ против $7,1 \pm 1,1$ станайнов), общий показатель личностной тревожности ($5,6 \pm 1,6$ против $7,4 \pm 0,6$ станайнов), тревожная оценка перспективы

($6,3 \pm 0,7$ против $7,1 \pm 0,5$ станайнов). В тоже время у пациентов с АИЗП до ОТП значительно превышены показатели по шкалам: астенический компонент (7,8 станайна), тревожная оценка перспективы (7,5 ст.), общий показатель личностной тревожности (7,5 ст.) и фобический компонент (7,2 ст.). После ОТП преобладал астенический компонент. Таким образом, у пациентов с ВГ личностная тревожность проявляется после ОТП, а у больных с АИЗП тревожность достигает своего пика в состоянии до ОТП.

У пациентов с ВГ до ОТП выраженность тревожных переживаний, связанных с ситуацией болезни, не превышала нормативные значения. Ситуативная тревога у пациентов с ВГ в анамнезе после ОТП была выражена незначительно (астенический компонент $6,1 \pm 0,5$ станайна). Для пациентов с АИЗП до ОТП характерны тревожные переживания ситуаций, связанных с самочувствием (астенический компонент $7,2 \pm 0,4$ станайна), по другим шкалам показатели не превышали нормативные значения. У больных с АИЗП в анамнезе после ОТП показатели не превышали нормативных значений, что свидетельствует об относительно спокойном состоянии, в котором пребывали пациенты перед выпиской из стационара с функционирующим трансплантатом.

У больных АИЗП перед выпиской из стационара и в отдаленном периоде через 12 мес. после ОТП выявлен незначительный уровень невротичности. Характерные для больных этих групп неврозоподобные расстройства не претерпевают изменения в динамике, сохраняются расстройства сна, ипохондрические и астенические расстройства.

Однако по методике ОНР-СИ депрессивные, дерелизационные, психастенические расстройства достоверно менее выражены у больных через год после ОТП по сравнению с более ранним периодом (рис. 16).

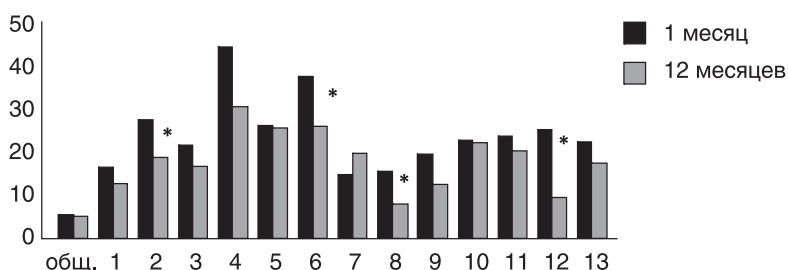


Рис. 16. Динамика выраженности неврозоподобных расстройств по шкалам у пациентов с АИЗП через 1 и 12 мес. после ОТП (в баллах)

Шкалы 1–13 указаны на рис. 15, * – $p < 0,05$.

В группе больных ВГ доминировали другие показатели в структуре неврозоподобной симптоматики: расстройства сна, астенические рас-

стройства, соматовегетативные и психастенические расстройства. Через 1 мес. после ОТП эти расстройства выражены и имеют высокие значения. Показатели достоверно снижаются через 12 месяцев после ОТП, хотя они также остаются доминирующими в структуре неврозоподобной симптоматики, но носят умеренно выраженный характер и проявляются в основном в связи с ухудшением физического состояния (рис. 17).

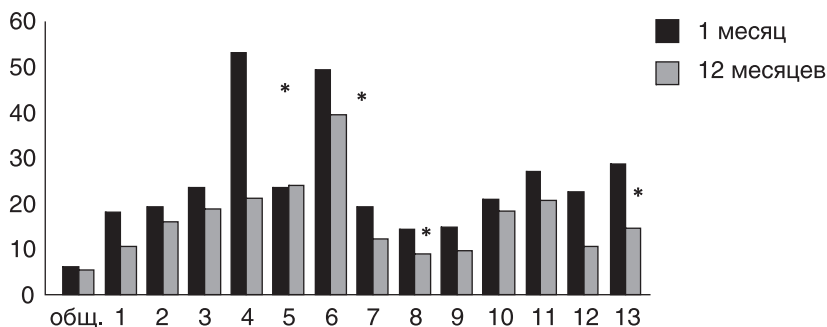


Рис. 17. Динамика выраженности неврозоподобных расстройств по шкалам у пациентов с ВГ через 1 и 12 мес. после ОТП (в баллах)

Шкалы 1–13 указаны на рис. 35. * – $p < 0,05$.

В отличие от больных ВГ, у больных АИЗП доминирующие расстройства в структуре неврозоподобной симптоматики не претерпевают достоверных изменений в течение первого года наблюдения после ОТП. У больных с АИЗП перед выпиской общий уровень неврозоподобных расстройств незначительный, тогда как у больных с ВГ в этот период этот показатель умеренно выражен.

У больных обеих групп в отдаленные сроки общий уровень неврозоподобных расстройств не выражен. Неврозоподобные расстройства не являются доминирующими в структуре эмоциональных нарушений у больных обеих групп в первый год после ОТП и претерпевают изменения на уровне ощущений.

Для больных АИЗП характерен повышенный уровень личностной тревожности (рис. 18).

После ОТП этот показатель определяется на уровне $6,45 \pm 1,36$ станайна (норма 4–6), то есть больные имеют склонность к проявлению тревожных реакций на широкий спектр ситуаций, которые сами по себе могут быть относительно безопасными. Через год после ОТП показатель уменьшается незначительно. Таким образом, тревога за свое состояние здоровья остается актуальной для больных, независимо от давности ОТП. Больные после ОТП испытывают большой эмоциональный дискомфорт тревожных переживаний ($6,27 \pm 1,31$ станайна).

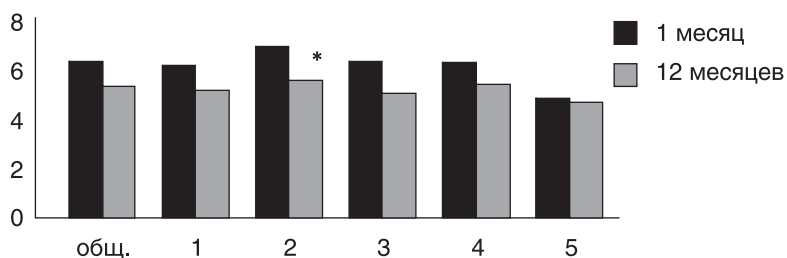


Рис. 18. Динамика структуры личностной тревожности по методике ИТТ у больных АИЗП через 1 и 12 мес. после ОТП

Шкалы по оси абсцисс: 1 – общий показатель, 2 – эмоциональный дискомфорт, 3 – астенический компонент, 4 – фобический компонент, 5 – тревожная оценка перспектив, 6 – социальная защита; по оси ординат – станайны, нормативные значения 4–6 баллов

Они воспринимают большой спектр различных ситуаций как потенциально опасный, поэтому выражен эмоциональный компонент этой тревоги, чаще всего испытывают большое эмоциональное напряжение на протяжении восстановительного периода, находясь в стационаре. Через год после ОТП эмоциональное напряжение достоверно снижается ($p = 0,02$). Эмоциональный дискомфорт, связанный с ситуацией болезни в период ожидания трансплантацией уходит, как только больной осознает, что операция, которую он ждал позади (рис. 18).

Через год у больных ВГ после ОТП эмоциональное напряжение также достоверно уменьшается, как и у больных АИЗП. Достаточно выраженным в группе ВГ оказался фобический компонент личностной тревожности ($6,94 \pm 0,54$ станайна), т.е. страхи и опасения больных носят четкий и оформленный характер, что вместе с более выраженным эмоциональным компонентом тревоги создает предпосылку для дезадаптации больных.

У больных ВГ после ОТП, по сравнению с больными АИЗП, перед выпиской из стационара наиболее выражен уровень личностной тревожности, как личностно-типологической характеристики. При сравнении групп больных с АИЗП и ВГ после ОТП и в отдаленные сроки после ОТП выявлены достоверные различия по шкале эмоциональный дискомфорт личностной тревожности. Перед выпиской из стационара для больных обеих групп ситуация терминальной стадии болезни печени болезни перестает быть психотравмирующей, тревожной.

У больных с АИЗП после ОТП, как в раннем, так и в отдаленном периодах, отношение к болезни носит дезадаптивный характер, который подтверждается высокими балльными значениями, полученными при исследовании сенситивного, ипохондрического и неврастенического типов отношения к заболеванию. Ведущим типом отношения к болезни является сенситивный тип ($15,27 \pm 5,56$). Больные чрезмерно ранимы, уязвимы,

озабочены своим актуальным состоянием после ОТП и тем, какое впечатление они производят на окружающих в данном состоянии.

Тип реагирования на болезнь у пациентов с АИЗП сохраняется и после трансплантации печени.

У больных ВГ отношение к болезни смешанное, в его структуре преобладающими были ипохондрический, неврастенический и сенситивный варианты. Больные фиксированы на переживаниях, связанных с послеоперационным периодом. Через год после ОТП фиксация на своем соматическом состоянии достоверно снижается и перестает быть актуальной. В структуре внутренней картины болезни у пациентов с ВГ важное место занимают неврастенические ($10,06 \pm 8,47$ баллов) и эгоцентрические ($7,82 \pm 3,2$ баллов) тенденции, что свидетельствует о фиксации на негативных переживаниях, связанных с заболеванием. Через год после ОТП негативные переживания, связанные с трансплантацией, закономерно теряют свою значимость.

Больные АИЗП после ОТП оценивали свое качество жизни как низкое. Большинство шкальных оценок находится в интервале от $20,45 \pm 11,12$ до $64,36 \pm 15,56$ баллов, что указывает на низкую дифференциацию больными наиболее важных сфер, влияющих на оценку качества их жизни (рис. 19).

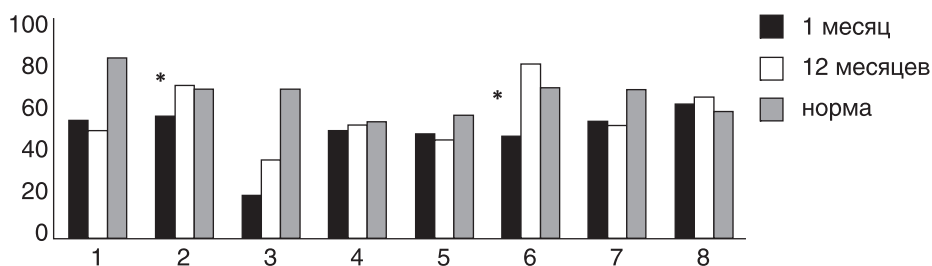


Рис. 19. Оценка качества жизни (SF36) у больных АИЗП через 1 и 12 мес. после ОТП

По оси абсцисс: 1 – общее состояние здоровья, 2 – физическое функционирование, 3 – влияние физического состояния на ограничение жизнедеятельности, 4 – роль эмоциональных проблем, 5 – социальная активность, 6 – интенсивность боли, 7 – жизнеспособность, 8 – самооценка психического здоровья; по оси ординат – значения в баллах, * $p < 0,05$.

Параметр физического функционирования, отражающий степень, в которой здоровье лимитирует выполнение физических нагрузок, у пациентов после ОТП ниже нормативного показателя ($58,64 \pm 9,65$). Этот показатель представляет собой субъективную оценку больным объема своей повседневной физической нагрузки. В послеоперационном периоде больные испытывают сложности даже в простых ежедневных манипу-

ляциях (самообслуживание, короткие прогулки). Спустя год после ОТП физическое состояние улучшается, что сказывается и на физическом функционировании ($p = 0,04$). Таким образом, физическая активность и способность выполнять физические нагрузки увеличивается.

Именно физическое состояние после ОТП является определяющим фактором в ограничении жизнедеятельности больных. Средний показатель в группе значительно ниже нормативных данных и равен $20,45 \pm 11,12$ баллов. Больные недовольны влиянием своего негативного физического состояния на выполняемую деятельность. Этот показатель спустя год после ОТП не претерпевает значительных изменений и остается на низком уровне. Поскольку оценка качества жизни носит субъективный характер, она может отличаться от данных объективного клинического обследования.

Таким образом, больные АИЗП, перенесшие ОТП, через год после операции не предъявляют жалоб по поводу своего физического состояния, отмечая значительное его улучшение. Однако через год после ОТП не все больные могут вернуться к работе, которая требует больших физических нагрузок, чем повседневный уход за собой.

Исходно ВГ после ОТП имеют достоверно более низкое качество жизни по всем показателям. Через год после ОТП у больных с ВГ наблюдается значительное улучшение качества жизни по всем параметрам, больные этой группы быстрее восстанавливают свой физический потенциал, чем больные АИЗП.

Полученные взаимосвязи демонстрируют влияние неврозоподобных состояний, присущих данным больным, на неосознаваемый выбор ими типа реагирования на болезнь. Схема доказанных взаимосвязей представлена на рис. 20.

Личностная тревожность, как индивидуально-типологическая характеристика больных, и ситуативная тревога, как реакция на ситуацию, обусловленную болезнью, связана с неврозоподобными расстройствами (рис. 21). Существует такая же взаимозависимость степени астении от личностной тревожности.

Выявлена положительная взаимосвязь расстройств сна с эмоциональным дискомфортом личностной тревожности, с астеническим и фобическим компонентами личностной тревожности. Взаимосвязи депрессивного расстройства с эмоциональным дискомфортом личностной тревожности и социальными защитами личностной тревожности демонстрируют влияние личностных особенностей больных на возможное возникновение и развитие депрессивного расстройства. Таким образом, тревожно-астеническая симптоматика отражает специфику клинической картины и уточняет клинико-психологические характеристики больных с АИЗП до ОТП.

Характеризуя больных АИЗП как тревожных, следует обратить внимание на связь тревоги с тяжестью заболевания: чем выше MELD, тем

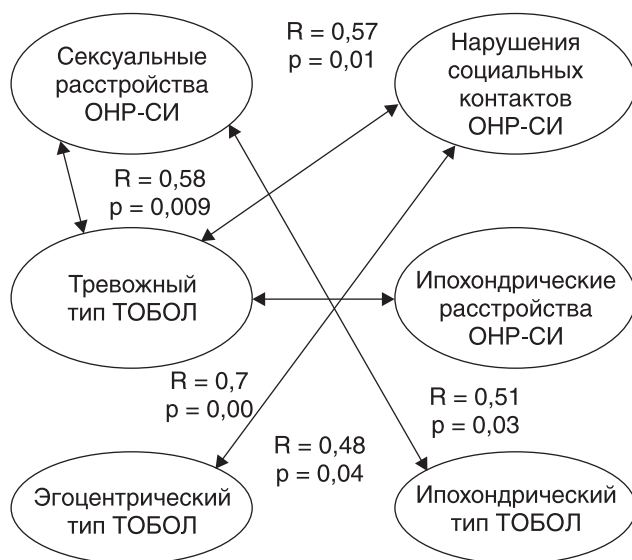


Рис. 20. Взаимосвязи по методикам ТОБОЛ и ОНР-СИ у больных АИЗП до ОТП (положительные корреляции)

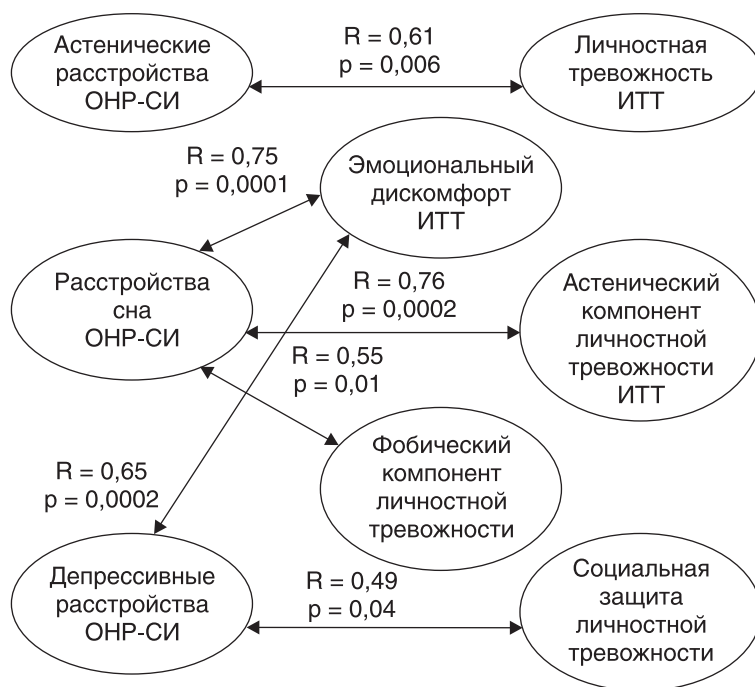


Рис. 21. Взаимосвязи по методикам ИТТ и ОНР-СИ у больных АИЗП до ОТП (положительные корреляции)

значительнее фобический компонент ситуативной тревоги и более выражена социальная защита ситуативной тревоги. Эта связь усиливается во времени, так показатель MELD, измеренный непосредственно перед ОТП, оказался связан с фобическим компонентом ситуативной тревоги ($R = 0,74$, $p = 0,009$) с социальной защитой личностной тревожности ($R = 0,84$, $p = 0,008$). То есть при ухудшении состояния больного и удлинении периода ожидания ОТП усиливаются страхи, тревога и зависимость от социального окружения.

Слабость характерна для всех больных в период ожидания ОТП, она присутствует при тревожно-фобических ($R = 0,52$; $p = 0,02$), депрессивных ($R = 0,53$, $p = 0,02$) и психастенических ($R = 0,50$; $p = 0,03$) расстройствах.

У больных АИЗП после ОТП при сохранении расстройств сна чаще является неврастенический тип отношения к болезни ($R = 0,66$; $p = 0,04$).

В отдаленном периоде после ОТП у больных АИЗП на фоне депрессивных (ОНР-СИ) ($R = 0,80$, $p = 0,009$) и ипохондрических ($R = 0,71$; $p = 0,03$) расстройств может формироваться тревожный тип реагирования на болезнь. При нарастании общего уровня невротоподобной симптоматики возрастает риск развития депрессии ($R = 0,74$, $p = 0,02$).

При изучении взаимосвязи тревоги и тревожности с невротоподобными расстройствами у больных с АИЗП перед выпиской из стационара и через 12 месяцев после ОТП также была доказана связь личностной тревожности с невротоподобными расстройствами. При доминировании астенического компонента личностной тревожности могут нарушаться социальные контакты ($R = 0,71$; $p = 0,02$), более вероятны соматовегетативные расстройства ($R = 0,77$; $p = 0,009$).

Выявлены многочисленные связи (отрицательные и положительные корреляции) качества жизни с эмоционально-аффективными расстройствами и типом реагирования на болезнь у пациентов с АИЗП через месяц и через год после ОТП.

У больных с АИЗП перед выпиской из стационара после ОТП установили связь тревожной оценки перспективы ($R = 0,65$; $p = 0,03$) с выраженностью болевого синдрома, оцененного по методике SF 36. При наличии послеоперационных болей у больных часто возникают тревожные переживания по поводу своего будущего, в частности, процесса выздоровления. Нередко в этот период времени возникают сомнения как о правильности и своевременности операции, так и ее необходимости. Следует отметить, что, чем выше эмоциональный дискомфорт ситуативной тревоги ($R = -0,61$; $p = 0,05$), тем ниже самооценка психического состояния (SF 36) и выше риск депрессии (Зунг) ($R = 0,73$; $p = 0,01$).

У больных с АИЗП в анамнезе динамических корреляций между методиками ИТТ, Зунг и SF-36 в сроки через 1 мес. и через 12 мес. после ОТП не обнаружили.

Тип отношения болезни (ТОБОЛ) может влиять показатели качества жизни. Так при меланхолическом типе отношения к болезни может снижаться социальная активность ($R = -0,76$; $p = 0,007$). При неврастеническом и депрессивном типах отношения к болезни снижена жизнеспособность ($R = -0,77$; $p = 0,006$; $R = -0,93$; $p = 0,0003$). Самооценка психического здоровья снижена при неврастеническом типе отношения к болезни ($R = -0,66$; $p = 0,03$).

Больные с АИЗП в отдаленном периоде после ОТП при доминировании тревожного типа отношения к болезни (ТОБОЛ) оценивают общее состояние здоровья, как низкое ($R = -0,95$; $p = 0,0001$), у них снижены социальная активность ($R = -0,73$; $p = 0,02$) и самооценка психического состояния ($R = -0,86$; $p = 0,003$). Больные с АИЗП в анамнезе неосознанно выбирают дезадаптивный стиль реагирования на болезнь, который в свою очередь отражается на качестве их жизни.

Исходя из рассмотренных взаимосвязей, можно утверждать, что у больных с АИЗП в послеоперационный период выздоровления преобладают тревожные переживания. Возможно, тревожность как личностно-характерологическая черта больных имеет влияние на все области жизнедеятельности пациентов. Наиболее ярко это проявляется в эмоциональной сфере. Спустя год после ОТП острота эмоциональных переживаний по поводу своего физического состояния снижается, но даже незначительные изменения в состоянии здоровья формируют дезадаптивный (тревожный тип отношения к болезни) стиль реагирования на болезнь.

Некоторые клинические ситуации после ОТП влияют на психологические характеристики пациентов. У больных с АИЗП, которые перенесли кризы отторжения, более значительна социальная защита ситуативной тревоги (ИТТ) ($R = -0,67$; $p = 0,03$), ниже социальная активность ($R = 0,59$; $p = 0,05$). Более приверженными к лечению оказываются пациенты с высоким уровнем личностной тревожности.

Кризис отторжения могут запускать ипохондрические расстройства (ОНР-СИ) ($R = 0,65$; $p = 0,05$) и влиять на формирование тревожного типа отношения к болезни (ТОБОЛ) ($R = -0,81$; $p = 0,009$).

Для больных с ПБЦ более характерен ипохондрический тип отношения к болезни (ТОБОЛ) ($R = -0,76$; $p = 0,02$).

Как правило, те больные, которые соблюдают медицинские рекомендации, выше оценивают общее состояние здоровья ($R = -0,68$; $p = 0,04$). На оценку общего состояния также влияют кризы отторжения ($R = -0,79$; $p = 0,01$). Больные, перенесшие кризы отторжения, отмечают снижение жизнеспособности ($R = -0,67$; $p = 0,05$), у них более низкая самооценка психического состояния ($R = -0,71$; $p = 0,03$). По сравнению с больными ВГ больные с АИЗП более подвержены эмоциональному дискомфорту ($R = -0,67$; $p = 0,04$).

Социальные факторы, безусловно, влияют на течение раннего и отдаленного послеоперационных периодов у больных с АИЗП. Ближайшее окружение (семья) способно оказывать положительное влияние на снижение тревоги, которая характерна для больных после ОТП. Для больных, находящихся в браке, процесс выздоровления, особенно ранний послеоперационный восстановительный период, менее тревожен. Для больных в ранний и отдаленный периоды после ОТП характерны переживания по поводу работы, но эти переживания носят разнонаправленный характер. Выраженный астенический синдром не позволяет большинству больных после ОТП планировать возвращение к работе. Для работающих реципиентов характерен тревожный тип реагирования на болезнь. Знания и воспоминания о наличии основного заболевания, нестабильность физического состояния, необходимость постоянного контроля за своим здоровьем и соблюдения медицинских рекомендаций не позволяют полностью вернуться к привычному рабочему ритму, своим обязанностям, формируя страх потери работы.

Результаты социальной реабилитации удовлетворительные, только 3,9% больных, перенесших ОТП, остаются инвалидами со стойкой утратой нетрудоспособности.

Трансплантация печени является радикальным способом лечения АИЗП в терминальной стадии. Перспективы трансплантации печени таким больным оптимистичны, они связаны с тем, что частота рецидивов относительно невелика, они редко приводят к терминальной стадии дисфункции трансплантата, когда требуется ретрансплантация, и хорошо корригируются оптимизацией иммуносупрессии. Основная проблема заключается в более ранней диагностике типа поражения печени, чтобы затормозить прогрессирование болезни до терминальной стадии. Надежды связаны с применением иммуносупрессивных препаратов, которые используются в трансплантологии, для лечения аутоиммунных заболеваний в более ранние сроки, чтобы затормозить их прогрессирование до той стадии, когда потребуется трансплантация печени. Важно проводить комплексное лечение АИЗП с целью увеличения продолжительности жизни на этапе ожидания трансплантации, поскольку количество операций остается много меньшим, чем число больных, которым показана пересадка печени.

ВЫВОДЫ

1. В общей структуре патологии в листе ожидания трансплантации печени доля больных с терминальными стадиями аутоиммунных гепатобилиарных заболеваний составляет 30%. Для пациентов с аутоиммунными заболеваниями характерны более быстрое прогрессирование печеночной недостаточности, а основной причиной летальности в дан-

ной группе больных является печеночно-клеточная недостаточность, ставшая причиной смерти в 64% случаев.

2. Разработанный алгоритм обследования и лечения больных в листе ожидания трансплантации печени позволяет выявлять ранее не установленный тип аутоиммунного поражения печени у 15% больных, избегать тяжелых осложнений и в 30% случаев снизить показатель неотложности выполнения MELD с 16 ± 4 до $13 \pm 3,2$. Терапевтическая коррекция аутоиммунных гепатитов в терминальной стадии должна быть направлена на снижение цитолитической активности печеночных ферментов путем применения современных иммунодепрессивных средств, а первичном билиарном циррозе в терминальной стадии болезни – препаратами урсодезоксихолевой кислоты.
3. В посттрансплантационном периоде комплексная диагностика дисфункции трансплантата у больных с аутоиммунными заболеваниями печени должна включать оценку клинико-лабораторных данных, в том числе спектра и титра аутоантител в крови и результаты морфологических исследований. Проведение протокольных пункционных биопсий с частотой 1, 3 и 5 лет после трансплантации является важнейшим звеном в диагностике рецидивов аутоиммунных заболеваний печени, позволяющим выявлять рецидив до появления клинических симптомов.
4. Рецидивы аутоиммунных заболеваний регистрируются реже, чем рецидивы вирусных гепатитов В и С (19 и 52% соответственно) и не приводят к прогрессированию дисфункции трансплантата при своевременной диагностике и коррекции иммуносупрессивной терапии. В этих случаях конверсия с циклоспорина на програф нецелесообразна. При рецидиве аутоиммунного гепатита следует применять глюкокортикоиды, при первичном билиарном циррозе – препараты урсодезоксихолевой кислоты, при рецидивах первичного склерозирующего холангита не использовать преднизолон.
5. Динамическое исследование уровня ангиогенных субпопуляций стволовых гемопоэтических клеток крови (CD133+, CD34+) после трансплантации печени позволяет прогнозировать варианты течения раннего посттрансплантационного периода и своевременно корректировать иммуносупрессивную и симптоматическую терапию.
6. В структуре эмоционально-аффективных расстройств у больных аутоиммунными заболеваниями печени доминируют тревожно-астенические расстройства, преобладают дезадаптивные типы отношения к болезни. Для посттрансплантационного периода характерны умеренно выраженные неврозоподобные расстройства с незначительным тревожным компонентом и сохраняющейся астенической симптоматикой, при этом качество жизни достоверно выше, чем до трансплантации, однако ниже, чем у больных с вирусными гепатитами в анамнезе

($51,6 \pm 12$ против $62,5 \pm 11,1$ баллов). Высокий уровень личностной тревожности и доминирующий сенситивный тип отношения к болезни могут свидетельствовать о преморбидной обусловленности сенситивности как личностно-типологической характеристики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больной с циррозом печени нуждается в обследовании для верификации природы заболевания. При исключении вирусной этиологии заболевания следует проводить иммунологическое исследование крови для выявления аутоантител. Их обнаружение в диагностическом титре позволяет провести дифференциальный диагноз типа аутоиммунного поражения печени.
2. При наблюдении больного аутоиммунным заболеванием печени в листе ожидания требуется дифференцированное лечение с учетом варианта патологии и комплексная терапия цирроза печени, целью которой является торможение прогрессирования аутоиммунного заболевания и профилактика фатальных осложнений цирроза печени. Предложенный алгоритм обследования облегчает диагностический поиск, алгоритм лечения больных в листе ожидания трансплантации печени целесообразно использовать после верификации диагноза.
3. Когда возможности терапевтической коррекции исчерпаны, должна быть рекомендована трансплантация печени, которая является единственным способом лечения терминальных стадий аутоиммунных заболеваний гепатобилиарной системы.
4. Для диагностики рецидива аутоиммунного заболевания печени в трансплантате и дифференциальной диагностики с острым и хроническим отторжением рекомендовано проведение протокольных биопсий. При выявлении рецидива аутоиммунного заболевания после трансплантации печени требуется модификация иммуносупрессивной терапии. Для аутоиммунного гепатита целесообразно назначение кортикостероидов, для первичного билиарного цирроза предпочтительным препаратом можно считать циклоспорин, но при этом не следует отменять кортикостероиды, дополнительно целесообразен прием препаратов урсодезоксихолевой кислоты в суточной дозе 15 мг/кг/сутки. При первичном склерозирующем холангите необходимы отмена кортикостероидов, усиливающих фибропластические процессы, и прием препаратов урсодезоксихолевой кислоты.
5. Пациенты с аутоиммунными заболеваниями печени требуют клинико-психологического обследования и наблюдения психологом совместно с другими специалистами. Для выявления особенностей психологического статуса необходимо использовать современные методики психологической диагностики. Для индивидуализации лечебного про-

цесса, основанного на комплексной клинической оценке больного, необходимо учитывать психологические факторы.

6. После трансплантации печени мониторинг уровня ангиогенных популяций стволовых гемопоэтических клеток крови может использоваться для прогнозирования отторжения или инфекционных осложнений в раннем послеоперационном периоде.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Гранов Д.А., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К.* Основные принципы отбора на трансплантацию печени и динамика листа ожидания в ЦНИРРИ (1998–2006 гг.) // Стационарозамещающие технологии. Амбулаторная хирургия. – 2007. – № 2 (26). – С. 17–19.
2. *Герасимова О.А., Гранов Д.А., Мойсюк Я.Г.* Возможности трансплантации печени при аутоиммунных заболеваниях // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2008. – № 5 (43). – С. 12–17.
3. *Герасимова О.А.* Нехирургические аспекты трансплантации печени: анализ листа ожидания РНЦРХТ в 2000–2007 гг. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2008. – № 5 (43). – С. 8–12.
4. *Таразов П.К., Гранов Д.А., Поликарпов А.А., Генералов М.И., Жеребцов Ф.К., Кротова О.А., Герасимова О.А., Майстренко Д.Н., Козлов А.В., Руткин И.О.* Ортопическая трансплантация печени: роль интервенционной радиологии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2009. – № 3. – С. 42–51.
5. *Герасимова О.А., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Боровик В.В.* Первый опыт применения телбивудина у больных после трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, № 1. – С. 33–38.
6. *Герасимова О.А., Михайличенко Т.Г., Жеребцов Ф.К., Райхельсон К.Л.* Результаты психологического обследования больных с циррозом вирусной этиологии после трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, №1. – С. 27–33.
7. *Шутко А.Н., Герасимова О.А., Екимова Л.П., Жеребцов Ф.К., Карамулин М.А., Гранов А.М.* Стволовые гемопоэтические клетки крови в раннем периоде трансплантации печени // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т. 10, № 1. – С. 104–111.
8. *Герасимова О.А., Михайличенко Т.Г., Жеребцов Ф.К., Райхельсон К.Л., Мительглик У.А.* Некоторые теоретические аспекты комплексного клинкопсихологического исследования больных аутоиммунными заболеваниями с исходом в цирроз перед трансплантацией печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, № 3. – С. 62–68.
9. *Шутко А.Н., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К., Екимова Л.П., Гранов А.М.* Патент №2424529. Способ прогнозирования риска осложнений у реципиентов после трансплантации трупной печени. Приоритет 05.05.2010, регистрация 20.07.2011.

10. Михайличенко Т.Г., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К. Сравнительное исследование структуры эмоциональных нарушений до и после ортотопической трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. 13, №2. – С. 52–57.
11. Михайличенко Т.Г., Райхельсон К.Л., Марченко Н.В., Герасимова О.А. Структура эмоциональных нарушений у женщин с аутоиммунными заболеваниями печени в стадии цирроза // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – Т. II (39), № 2. – С. 257–259.
12. Барановский А.Ю., Мительглик У.А., Райхельсон К.Л., Марченко Н.В., Зубарева А.С., Герасимова О.А. HLA-антигены I и II класса при аутоиммунных заболеваниях печени в Северо-западном регионе России // Вестник Санкт-Петербургской Медицинской академии последипломного образования. – 2010. – Т. 2, № 4. – С. 55–59.
13. Гранов А.М., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Полысалов В.Н., Герасимова О.А., Боровик В.В., Осовских В.В., Майстренко Д.Н., Руткин И.О., Цурупа С.П., Тилеубергенов И.И., Шаповал С.В. Опыт 100 трупных трансплантаций печени в Российском научном центре радиологии и хирургических технологий // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2012. – Т. 17, № 2. – С. 74–77.
14. Герасимова О.А., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К. Сравнительная оценка результатов трансплантации печени больным с циррозом печени вирусной этиологии и аутоиммунными заболеваниями печени. Данные одного центра // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. 16, № 1. – С. 36–41.
15. Гранов Д.А., Боровик В.В., Поликарпов А.А., Жеребцов Ф.К., Полысалов В.Н., Герасимова О.А. Успешная коррекция билиарной стриктуры после ортотопической трансплантации печени // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2012. – Т. 17, № 2. – С. 96–97.
16. Гранов Д.А., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К. Программа трансплантации печени в ЦНИРРИ. Лист ожидания: принципы отбора, проблемы, динамика. Материалы конференции «Клиническая трансплантация органов (актуальные вопросы)», Москва, 26–27 сентября 2007 г. С. 74.
17. Гранов А.М., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Полысалов В.Н., Герасимова О.А., Майстренко Д.Н., Боровик В.В. «Организационные аспекты трансплантации печени в ЦНИРРИ» // Материалы научной конференции «Актуальные вопросы трансплантации печени и органного донорства», Санкт-Петербург, 1 июня 2007. С. 17–18.
18. Гранов Д.А., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К. «Состояние листа ожидания в ЦНИРРИ в 1998–2006 гг.» // Материалы научной конференции «Актуальные вопросы трансплантации печени и органного донорства», Санкт-Петербург, 1 июня 2007. С. 19.
19. Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Полысалов В.Н., Герасимова О.А., Боровик В.В., Майстренко Д.Н., Руткин И.О., Осовских В.В., Цурупа С.П. Клинический статус реципиентов и трансплантация печени в РНЦРиХТ // Тезисы XIV Международного конгресса стран СНГ «Актуальные проблемы хирур-

- гической гепатологии». Санкт-Петербург, 19–21 сентября 2007 г. // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2007. – Т. 12, № 3. – С. 56.
20. *Генералов М.И., Поликарпов А.А., Таразов П.Г., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Польшалов В.Н., Майстренко Д.Н., Руткин И.О., Герасимова О.А., Осовских В.В.* Трансъюгулярный внутривеночный портосистемный шунт: «мост» к ортотопической трансплантации печени. Материалы первой международной конференции по торакоабдоминальной хирургии. М., 5–6 июня 2008. – С. 185.
 21. *Герасимова О.А., Боровик В.В., Руткин И.О., Польшалов В.Н., Жеребцов Ф.К., Гранов Д.А.* Перспективы трансплантации для больных аутоиммунными болезнями. Материалы IV всероссийского съезда трансплантологов. М., 9–10 ноября 2008. С 207.
 22. *Гранов Д.А., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К., Польшалов В.Н., Боровик В.В., Руткин И.О.* Реализация программы трансплантации печени в Северо-Западном регионе. Материалы IV всероссийского съезда трансплантологов. – М., 9–10 ноября 2008. – С. 193.
 23. *Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Польшалов В.Н., Осовских В.В., Цурупа С.П., Таразов П.Г., Боровик В.В., Руткин И.О., Майстренко Д.Н., Герасимова О.А.* Трансплантация печени в РНЦРХТ. 10-летний опыт. Материалы научной конференции «От лучей Рентгена – к инновациям XXI века: 90 лет со дня основания первого в мире рентгенорадиологического института (Российского научного центра радиологии и хирургических технологий)», с участием специалистов стран ближнего и дальнего зарубежья. ФГУ РНЦРХТ Росмедтехнологий, СПб, 8–10 октября 2008 г. – С. 272.
 24. *Герасимова О.А., Шутко А.Н., Екимова Л.П., Жеребцов Ф.К., Гранов Д.А.* Субпопуляции периферической крови человека после трансплантации печени. Материалы XIII Всероссийский форума с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге – 2009 г.» С. 464.
 25. *Таразов П.К., Гранов Д.А., Поликарпов А.А., Генералов М.И., Руткин И.О., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К.* Трансъюгулярный внутривеночный портосистемный шунт как этап подготовки к трансплантации печени // *Трансплантология*. – 2009. – № 1 – С. 38–43.
 26. *Герасимова О.А., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Боровик В.В.* Возможности применения телбивудина после трансплантации печени. Материалы Всероссийской научной конференции «Инфекции в трансплантологии», Москва, 3–4.12.09. // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – Т. XI, приложение. – С. 79–80.
 27. *Шутко А.Н., Герасимова О.А., Екимова Л.П., Жеребцов Ф.К., Гранов А.М.* Субпопуляции гемопоэтических стволовых клеток в раннем периоде после трансплантации печени // *Трансплантология*. – 2010. – №1 – С. 110–111.
 28. *Михайличенко Т.Г., Герасимова О.А., Жеребцов Ф.К.* Эмоциональные нарушения в психологической структуре личности больных вирусными гепатитами после трансплантации печени // *Трансплантология*. – 2010. – № 1. – С. 111.

29. *Шутко А.Н., Герасимова О.А., Екимова Л.П., Жеребцов Ф.К.* Способ прогнозирования риска осложнений у реципиентов в ранние сроки после трансплантации трупной печени. Стендовый доклад на II Научно-образовательном форуме с международным участием «МЕДдиагностика 2010». Московская обл., г. Красногорск, 25 – 27 мая 2010 г.
30. *Герасимова О.А.* Результаты трансплантации печени больным с циррозами печени вирусной этиологии и аутоиммунными заболеваниями печени // Материалы 10 Российско-итальянской конференции «Актуальные вопросы социально-значимых инфекций» 26–27 мая 2011 г., Великий Новгород. – С. 48–54.
31. *Gerasimova Olga A., Granov Dmitry A., Zherebtsov Fedor K., Borovik Vladimir I.* EFFICACY AND SAFETY OF TELBIVUDINE IN PATIENTS AFTER ORTHOTOPIC LIVER TRANSPLANTATION: A SINGLE-CENTER CLINICAL EXPERIENCE. Poster presented at 21 Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL), 17–20 February 2011, Bangkok, Thailand.
32. *Gane E., Amarapurkar D., Chen Y.C., Yan Z., Gerasimova O., Tetova V., Piratvisuth T., Chan N.L.Y., Deray G., Dong Y., Trylesinski A.* TELBIVUDINE (LDT) TREATMENT EFFECT ON GLOMERULAR FILTRATION RATE (GFR) IN CHRONIC HEPATITIS B (CHB) PATIENTS WITH POTENTIAL RISKS OF RENAL DYSFUNCTION. Poster presented at 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL) 18–22 April 2012.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИГ	–	аутоиммунный гепатит
АИЗП	–	аутоиммунные заболевания печени
АЛТ	–	аланиновая трансаминаза
АСТ	–	аспарагиновая трансаминаза
ВГ	–	вирусные гепатиты
ИТТ	–	интегративный тест тревожности
МНО	–	международное нормализованное отношение
ОНР-СИ	–	опросник невротических расстройств симптоматический
ОТП	–	ортотопическая трансплантация печени
ПБЦ	–	первичный билиарный цирроз
ПСХ	–	первичный склерозирующий холангит
ПЭ	–	печеночная энцефалопатия
ТОБОЛ	–	методика диагностики типов отношения к болезни
ФГА	–	фитогемагглютинин
MELD	–	Model of end stage liver disease
SF-36	–	методика исследования качества жизни

**АВТОРЕФЕРАТЫ ДИССЕРТАЦИЙ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК**

Гичкун Ольга Евгеньевна

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ЛИГАНДА CD40 ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ РАННЕГО ВОЗРАСТА

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2012

Работа выполнена в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России и ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор

Долгов Владимир Владимирович

академик РАМН,
доктор медицинских наук,
профессор

Готье Сергей Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Трансплантация печени (ТП) – эффективный и единственный радикальный метод лечения цирроза печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы у детей раннего возраста. В России программа родственной трансплантации фрагмента печени

детям осуществляется с 1997 года. В настоящее время в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России ежегодно выполняется более 60 таких операций [Готье С.В. и соавт., 2012].

Успехи в осуществлении клинической трансплантации печени делают актуальными задачи, связанные с прогнозированием течения послеоперационного периода и отдаленных результатов трансплантации, оценки эффективности терапии.

В последние годы много исследований в клинической трансплантологии посвящено изучению эффективности биохимических и иммунологических маркеров, позволяющих осуществлять мониторинг посттрансплантационного периода с помощью неинвазивных (или малоинвазивных) лабораторных технологий. Особое место среди них занимает лиганд CD40 (CD40L), непосредственно участвующий в ключевых механизмах взаимоотношений трансплантата и организма реципиента.

Молекула CD154, или CD40L – трансмембранный гликопротеин, с молекулярной массой 33–39 kDa, член суперсемейства фактора некроза опухолей (ФНО). Влияние CD40L на функциональное состояние трансплантата печени может осуществляться различными путями. Взаимодействие CD40L, встроенного в мембрану Т-клетки, с рецептором CD40 на поверхности антигенпредставляющих клеток играет ключевую роль в активации Т-лимфоцитов и регулирует важные механизмы отторжения/толерантности [Guo Y. et al., 1996]. Взаимодействие CD40L, находящегося на поверхности тромбоцитов, с рецептором CD40, встроенным в мембрану гепатоцита, является сигналом к активации процессов Fas-опосредованного апоптоза и гибели гепатоцитов [Bhagal R.H. et al., 2012].

В кровотоке CD40L находится в виде растворимого фрагмента (soluble CD40L, sCD40L), секретируемого активированными Т-клетками и тромбоцитами [Daoussis D. et al., 2004].

Установлено, что измерение содержания в крови sCD40L позволяет прогнозировать развитие таких серьезных осложнений у реципиентов сердца, как развитие васкулопатии трансплантата, острая коронарная смерть и тромботические осложнения [Шевченко О.П. и соавт., 2008; Antoniadou C. et al., 2009]. При трансплантации печени значение растворимой формы лиганда CD40 изучено недостаточно, подобных исследований при пересадке печени детям не проводилось.

Цель исследования

Оценить клиническое значение sCD40L при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы.

Задачи исследования

1. Оценить концентрацию sCD40L в плазме крови детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы и охарактеризовать ее связь с возрастом, полом, клиническими данными, результатами биохимических, общеклинических и коагулологических исследований.
2. У детей с циррозом печени охарактеризовать связь концентрации sCD40L с уровнями биомаркеров активации клеток иммунной системы (растворимой формы CD30, sCD30, неоптерина), воспаления (С-реактивного белка), апоптоза (растворимых форм Fas, sFas, и лиганда Fas, sFasL).
3. Выявить связь уровней sCD40L и гомоцистеина и оценить ее возможное клиническое значение при трансплантации печени детям.
4. У детей с циррозом печени оценить связь sCD40L с наличием антител против антигенов системы HLA и их динамикой после трансплантации печени.
5. Изучить изменения уровня sCD40L у реципиентов при трансплантации печени и доноров при резекции левого латерального сектора печени и их зависимость от течения посттрансплантационного периода.
6. Охарактеризовать прогностическое значение уровня sCD40L, определяемого в плазме крови пациентов на этапе дотрансплантационного обследования.

Научная новизна исследования

Впервые выявлены различия референтных значений уровня sCD40L у детей и взрослых и установлено, что для детей характерны более высокие концентрации этого биомаркера. Впервые установлено, что содержание sCD40L в плазме крови детей с циррозом печени ниже, чем у здоровых детей того же возраста.

Новыми являются данные о динамике sCD40L после родственной трансплантации фрагмента печени детям младшего возраста: впервые обнаружена ее связь с течением посттрансплантационного периода; выявлено увеличение уровня sCD40L в плазме крови реципиентов печени при остром отторжении и снижение его после эффективного лечения.

Впервые установлено негативное прогностическое значение исходно высокого ($\geq 2,6$ нг/мл) уровня sCD40L у реципиентов печени и охарактеризована его связь с риском развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата.

Практическая значимость исследования

Обнаруженный факт возрастных различий содержания sCD40L в плазме крови имеет практическое значение при клинической интерпретации

результатов исследований этого биомаркера у детей и взрослых, как до, так и после трансплантации.

Результаты исследования могут служить основанием для выявления на этапе дооперационного обследования пациентов с повышенным риском развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата в раннем посттрансплантационном периоде.

Измерение содержания sCD40L в плазме крови может быть полезным при контроле течения посттрансплантационного периода у реципиентов печени и коррекции проводимого лечения.

Положения, выносимые на защиту

1. Уровень sCD40L зависит от возраста: у детей концентрация выше, чем у взрослых. У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы уровень sCD40L ниже, чем у здоровых детей того же возраста.
2. Уровень sCD40L, определяемый на этапе дотрансплантационного обследования, имеет прогностическое значение: у детей с исходно высоким уровнем ($\geq 2,6$ нг/мл) выше риск развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата.
3. Изменение концентрации sCD40L после трансплантации печени связано с особенностями течения посттрансплантационного периода. Острое отторжение сопровождается значительным повышением уровня sCD40L и его снижением после успешного лечения.

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в хирургическом отделении № 2 отдела абдоминальной хирургии и трансплантации ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, в учебном процессе на циклах повышения квалификации врачей на кафедре клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 4 работы в зарубежной печати.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 28 июня 2012 года на совместной конференции научных и клинических подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России (ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова) и кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на V Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 8–10 октября 2010 г.), Всероссийской конференции с международным участием «Трансплантация печени в России: 20 лет спустя» (Москва, 14 февраля, 2010 г.), XXIII Международном конгрессе трансплантологического общества (Ванкувер, Канада, 15–19 августа, 2010 г.) (XXIII International Congress of the Transplantation Society, Vancouver, Canada, 15–19 August, 2010), 21-м Международном конгрессе по клинической химии и лабораторной медицине, Берлин, 15–19 мая, 2011 (IFCC WorldLab and EuroMedLab, Berlin, 15–19 May, 2011), 6 Конгрессе международной ассоциации трансплантаций у детей, Монреаль, Канада, 25–28 июня, 2011 (6th Congress of the International Pediatric Transplant Association, Montreal, Canada, June 25–28, 2011), XVI научно-практической конференции «Высокие технологии и модернизация в лабораторной медицине (Москва, 29–30 марта, 2011 г.), 15-м Конгрессе Европейского общества по трансплантации органов, Глазго, Великобритания, 4–6 сентября, 2011 (15th Congress of the European Society for Organ Transplantation, Glasgow, UK, 04.09-06.09. 2011), IV Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения-2011» (Санкт-Петербург, 7–9 декабря, 2011 г.); VI Всероссийском съезде трансплантологов, (Москва, 24–27 сентября, 2012 г.), XVI Форуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, 2–4 октября, 2012 г.).

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики больных и методов исследования, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, 7 выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 32 отечественных и 120 зарубежных источников. Работа изложена на 126 страницах машинописного текста, иллюстрирована 8 таблицами и 46 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 99 детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы в возрасте от 3 до 50 (средний возраст 12 ± 10) месяцев. Основными заболеваниями, которые привели к развитию терминальной стадии цирроза печени, являлись: атрезия желчевыводящих путей – у 53 (54%) пациентов, болезнь Байлера – у 12 (12%), синдром Алажиля – у 7 (7%), синдром Кароли – у 5 (5%), билиарная гипоплазия – у 7 (7%) пациентов и у 15 (15%) – другие заболевания, среди которых дефицит α_1 -антитрипсина, синдром Криглера–Найяра I типа, синдром Бадда–Киари, тирозинемия, гликогеноз I типа (болезнь Гирке).

Обследовано также 38 родственных доноров фрагмента печени, в возрасте от 18 до 56 (37 ± 19) лет.

Обследование и лечение больных проводилось в хирургическом отделении № 2 ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова. Плановое обследование пациентов включало: клиническую оценку состояния больного, общий анализ крови, общий анализ мочи, определение клиренса креатинина, измерение концентрации общего белка, альбумина, активности ферментов аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, γ -глутамилтранспептидазы, содержания билирубина, общего холестерина и липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов, глюкозы, мочевины, микроэлементов (Ca, Mg, P), электролитов, исследование коагулограммы (активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), концентрация фибриногена) (в клинико-диагностической лаборатории, зав. – к. м. н. Н.П. Шмерко), бактериологические исследования крови, мочи, отделяемого из зева (в бактериологической лаборатории, зав. – д. м. н. Н.И. Габриэлян), анализ на вирусные инфекции (CMV, EBV, HCV, HBV) (в лаборатории иммунологии, и. о. зав. – д. м. н. Р.Я. Войлокова).

Пациентам выполнялась ортотопическая трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора, двум пациентам была выполнена split-трансплантация. После трансплантации печени все реципиенты получали двух-трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус, метилпреднизолон и микофенолаты (при трехкомпонентной терапии).

Группу сравнения составили 25 детей-реконвалесцентов, получивших лечение в стационаре по поводу дисбактериоза, в возрасте от 7 до 24 мес., без других заболеваний (табл. 1).

Концентрацию sCD40L, sCD30, sFas и sFasL в плазме крови измеряли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов реагентов «BenderMedSystems», Австрия, неоптерина – «IBL», Германия, гомоцистеина – «Axis-Shield», Германия-Норвегия, антител к HLA I и II класса – «GTi Diagnostic», США. Концентрацию такролимуса определяли на

автоматическом анализаторе Siemens Dimension Xpand, США, наборы реагентов Tacrolimus – Siemens Healthcare Diagnostics Inc., США. Концентрацию С-реактивного белка определяли методом иммунотурбидиметрии с усилением частицами латекса («Dyasis», Германия).

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов

Параметр	Значения
Реципиенты: количество, n возраст, мес., $M \pm SD$ диапазон вариаций пол: мальчики/девочки	99 12 ± 10 от 3 до 50 45/54
Доноры: количество, n возраст, лет, $M \pm SD$ диапазон вариаций пол: мужчины/женщины	38 37 ± 19 от 18 до 56 16/22
Группа сравнения: количество, n возраст, мес., $M \pm SD$ диапазон вариаций пол: мальчики/девочки	25 14 ± 7 от 7 до 24 11/14

Статистическая обработка результатов исследования производилась с использованием пакета статистических программ Statistica 7.0 (Statsoft, Россия) и MS Office Excel. При анализе и документировании результатов исследования использовали методы описательной статистики: вычисление среднего арифметического (M), среднего стандартного отклонения (SD), верхней и нижней границ 95%-го доверительного интервала (95% ДИ), медианы распределения, 25 и 75% процентилей. Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по t-критерию Стьюдента (для признаков с нормальным распределением) или по U-критерию Манна–Уитни (задавалось число степеней свободы при $p = 0,05$).

Результаты исследования

Концентрация sCD40L у детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы

У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы уровень sCD40L составил $3,2 \pm 2,3$ нг/мл (медиана – 2,6 нг/мл, 25-й процентиль – 1,54 нг/мл, 75-й процентиль – 4,67 нг/мл) и достоверно отличался от такового у детей того же возраста, составивших группу сравнения, $4,7 \pm 2,3$ нг/мл, $p = 0,004$.

У здоровых взрослых – родственных доноров печени уровень sCD40L был достоверно ниже ($1,07 \pm 1,1$ нг/мл), чем у детей с циррозом печени и детей группы сравнения (рис. 1).

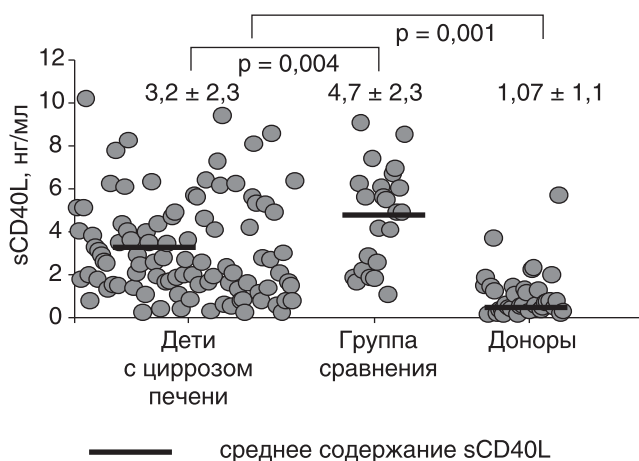


Рис. 1. Уровень sCD40L у детей с циррозом печени, детей группы сравнения и здоровых взрослых – родственных доноров печени

Наличие возрастных различий концентрации sCD40L необходимо учитывать при интерпретации результатов определения уровня указанного маркера.

Уровень sCD40L не различался у мальчиков и девочек ($3,4 \pm 2,4$ и $3,0 \pm 2,2$ нг/мл соответственно, $p > 0,05$); не выявлено значимых различий среднего уровня этого маркера у мужчин и женщин ($1,07 \pm 1,29$ и $1,08 \pm 0,89$ нг/мл соответственно, $p = 0,25$).

Концентрация sCD40L у детей с синдромом Алажилля, болезнью Байлера и синдромом Кароли не отличалась от таковой у детей группы сравнения, в то время как у детей с атрезией желчевыводящих путей, билиарной гипоплазией и другими заболеваниями была достоверно ниже (рис. 2).

Допустимо предположить, что обнаруженные различия в средних уровнях sCD40L при разных заболеваниях могут быть следствием особенностей первичной патологии и тяжести поражения гепатобилиарной системы.

При анализе связи уровня sCD40L со значениями общеклинических лабораторных параметров выявлена отрицательная достоверная связь между уровнем sCD40L и относительным количеством лимфоцитов (табл. 2).

У пациентов с исходно низким (ниже медианы распределения, 36,2%) количеством лимфоцитов уровень sCD40L был достоверно выше, чем с

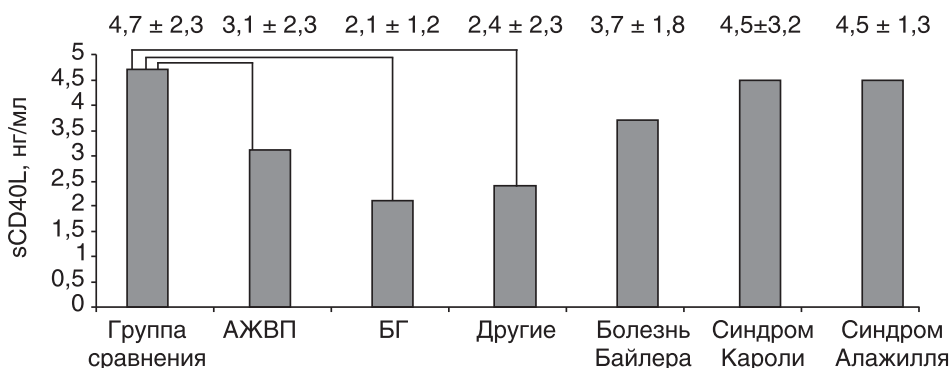


Рис. 2. Сравнительный анализ уровня sCD40L у пациентов с различными заболеваниями гепатобилиарной системы

Таблица 2

Средние значения общеклинических лабораторных параметров у детей с циррозом печени и их корреляция с уровнем sCD40L

Параметр	Значение (M ± m)	Связь с концентрацией sCD40L в плазме крови	
		Коэффициент корреляции, r_s	Достоверность, p
Эритроциты, $10^{12}/л$	$3,34 \pm 0,57$	-0,13	0,22
Гемоглобин, г/л	$92,2 \pm 14,6$	-0,16	0,12
Тромбоциты, $10^9/л$	$201 \pm 92,5$	0,003	0,97
Лейкоциты, $10^9/л$	$8,02 \pm 3,9$	-0,0075	0,48
Нейтрофилы, $10^9/л$	$3,8 \pm 2,4$	0,057	0,68
Лимфоциты, $10^9/л$	$2,8 \pm 1,9$	-0,197	0,069
Лимфоциты, %	$34,9 \pm 14,8$	-0,22	0,042

исходно высоким содержанием (выше медианы распределения) – $3,92 \pm 2,56$ и $2,67 \pm 1,96$ нг/мл, соответственно, $p = 0,03$. Связь с абсолютным содержанием лимфоцитов носила характер тенденции и не достигла статистической значимости.

Выявленные корреляционные связи уровня sCD40L с количеством лимфоцитов в крови могут указывать на вовлечение исследуемого маркера в иммунологические механизмы повреждения печени при врожденных и наследственных заболеваниях гепатобилиарной системы.

Анализ показал отсутствие корреляционной связи уровня sCD40L с величиной рутинно используемых биохимических показателей, отражающих состояние гепатобилиарной системы (табл. 3).

Не выявлено зависимости между уровнем sCD40L и показателями системы гемостаза (табл. 4).

Таблица 3

Средние значения биохимических показателей у детей с циррозом печени и их корреляция с уровнем sCD40L

Параметр	Значение ($M \pm m$)	Связь с концентрацией sCD40L в плазме крови	
		Коэффициент корреляции, r_s	Достоверность, p
Глюкоза, ммоль/л	$3,86 \pm 1,17$	0,013	0,9
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	$138,9 \pm 121,5$	0,089	0,41
Аспартатаминотрансфераза, Ед/л	$221,8 \pm 170,4$	0,098	0,36
γ -Глутамилтрансфераза, Ед/л	$122,7 \pm 125,0$	-0,1	0,36
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$620,9 \pm 386,1$	0,15	0,18
Альбумин, г/л	$37,1 \pm 7,4$	-0,11	0,29
Общий белок, г/л	$73,0 \pm 10,0$	-0,15	0,16
Общий билирубин, мкмоль/л	$311,9 \pm 255,8$	0,21	0,054
Прямой билирубин, мкмоль/л	$177,2 \pm 155,3$	0,18	0,11
Креатинин, мкмоль/л	$21,1 \pm 10,8$	0,011	0,91
Мочевина, ммоль/л	$4,17 \pm 2,03$	-0,038	0,72

Таблица 4

Средние значения параметров системы гемостаза у детей с циррозом печени и их корреляция с уровнем sCD40L

Параметр	Значение ($M \pm m$)	Связь с концентрацией sCD40L в плазме крови	
		Коэффициент корреляции, r_s	Достоверность, p
АЧТВ, с	$44,7 \pm 19,7$	0,011	0,92
ПТИ, %	$64,5 \pm 16,8$	-0,09	0,4
Фибриноген, мг/л	2494 ± 819	-0,21	0,053
Антитромбин III, %	$45,8 \pm 18,8$	-0,069	0,74

При сравнительном анализе уровня sCD40L и содержания в плазме крови биомаркеров активации клеток иммунной системы, воспаления и апоптоза не выявлена корреляции между этими показателями (табл. 5).

Результаты проведенных исследований показали, что у детей с циррозом печени уровень sCD40L является независимым параметром, не свя-

Таблица 5

Средние значения содержания биомаркеров у детей с циррозом печени и их корреляция с уровнем sCD40L

Параметр	Значение ($M \pm m$)	Связь с концентрацией sCD40L в плазме крови	
		Коэффициент корреляции, r_s	Достоверность, p
Неоптерин, нмоль/л	$22,8 \pm 17,9$	-0,11	0,36
sCD30, нг/мл	$84,9 \pm 43,8$	0,062	0,64
СРБ, мг/л	$10,2 \pm 10,5$	0,007	0,96
sFas, пг/мл	$589,3 \pm 418,3$	-0,15	0,75
sFasL, пг/мл	$15,4 \pm 19,3$	0,18	0,56

занным с большей частью показателей общего анализа крови, параметрами системы гемостаза и биохимическими показателями, отражающими состояние гепатобилиарной системы, а также с содержанием биомаркеров, отражающих активность воспаления, апоптоза и степень активации клеток иммунной системы.

Анализ связи уровня sCD40L и гомоцистеина

При исследовании связи концентраций гомоцистеина и sCD40L у детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы была выявлена положительная корреляция между этими показателями ($r_s = 0,28$; $p = 0,01$).

У детей с печеночной недостаточностью часто развивается гипергомоцистеинемия. Нарушения метаболизма, возникающие при гипергомоцистеинемии, сопровождаются повышенным тромбообразованием, развитием оксидативного стресса, снижением биодоступности оксида азота и др.

Средний уровень гомоцистеина у детей с циррозом печени составил $6,71 \pm 6,1$ мкмоль/л (медиана – 5,1 мкмоль/л, 25-й перцентиль равен 2,27 мкмоль/л, 75-й перцентиль – 9,07 мкмоль/л) (рис. 3). У 27% обследованных пациентов имела место умеренная, либо средняя гипергомоцистеинемия, то есть уровень гомоцистеина был выше верхней границы референтных значений для детей данного возраста. Причиной гипергомоцистеинемии у этих пациентов могут быть нарушение функции печени и почек, дефицит витаминов.

У пациентов с исходно низким содержанием гомоцистеина (ниже медианы распределения, $< 5,1$ мкмоль/л) уровень sCD40L составил $2,8 \pm 2,0$ нг/мл; у пациентов с исходным содержанием гомоцистеина, превышающим медиану распределения этого показателя ($\geq 5,1$ мкмоль/л), средняя концентрация sCD40L составила $3,45 \pm 2,45$ нг/мл. Различия между концентрацией sCD40L у пациентов с исходно низким и высоким содер-

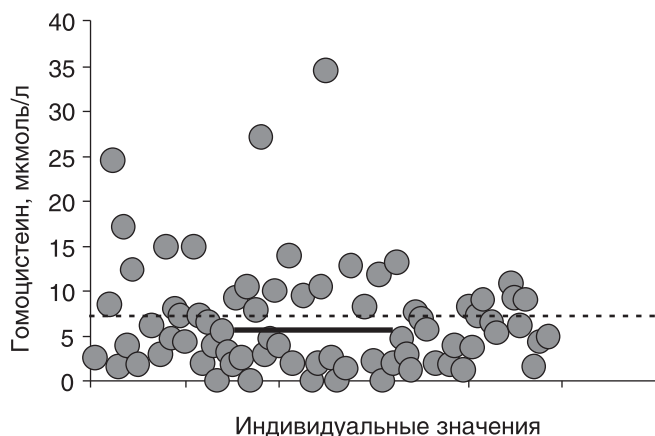


Рис. 3. Концентрация гомоцистеина в плазме крови детей с циррозом печени

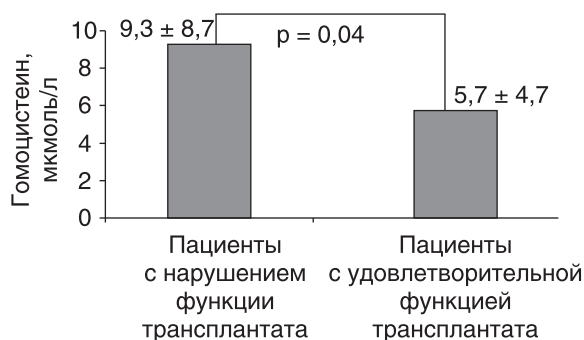


Рис. 4. Уровни гомоцистеина до трансплантации печени в плазме крови пациентов с нарушением функции трансплантата и без такового

жанием гомоцистеина в крови не достигли уровня статистической значимости ($p = 0,2$).

На рис. 4 представлен сравнительный анализ исходного уровня гомоцистеина у реципиентов печени с удовлетворительной в течение всего раннего посттрансплантационного периода (до 90 дней после трансплантации) функцией трансплантата и пациентов с нарушением функции трансплантата (дисфункция трансплантата), возникшим на фоне преходящих осложнений, таких как инфекции, тромбозы, развитие острого отторжения, и диагностированным на основании клинических и лабораторных данных. Средний уровень гомоцистеина у пациентов с нормальной функцией трансплантата в течение всего раннего посттрансплантационного периода (75 реципиентов) был достоверно ниже ($5,7 \pm 4,7$ мкмоль/л),

чем у пациентов, у которых возникали осложнения ($9,3 \pm 8,7$ мкмоль/л), сопровождающиеся нарушением функции трансплантата (24 реципиента, $p = 0,04$).

Сравнительный анализ сочетанного влияния исходно низких и исходно высоких уровней и гомоцистеина, и sCD40L показал, что частота встречаемости осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата у пациентов с исходно высокими (выше медианы распределения) уровнями и sCD40L, и гомоцистеина оказалась выше (45% от общего числа осложнений с нарушением функции трансплантата), чем у пациентов с исходно низкими уровнями обоих маркеров (26% от общего числа осложнений с нарушением функции трансплантата, рис. 5).

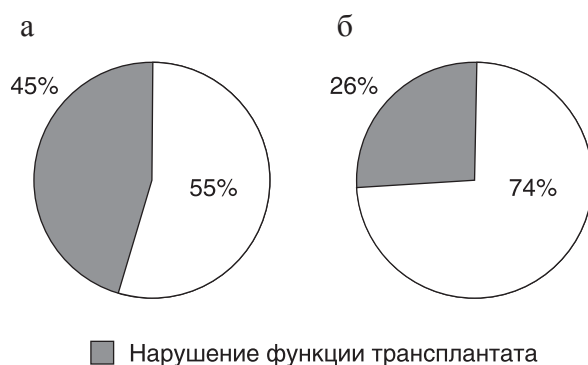


Рис. 5. Частота встречаемости осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата, у пациентов с исходно высокими (а) и исходно низкими (б) уровнями и гомоцистеина, и sCD40L

Результаты настоящего исследования могут указывать на участие сигнальной системы CD40/CD40L в регуляции нарушений метаболизма, связанных с нарушением обмена гомоцистеина, при заболеваниях печени и в условиях функционирования печеночного трансплантата в организме реципиента.

Сравнительный анализ содержания sCD40L и антител против HLA у детей с циррозом печени до и после трансплантации

Среди пациентов, включенных в исследование, у 58 (59%) – не было выявлено предсуществующих антител к HLA; антитела к HLA I класса (анти-HLA I) были выявлены у 11 (11%) детей, анти-HLA II – у 13 (13%), и антитела к HLA обоих классов – у 17 (17%) пациентов. Через месяц после трансплантации частота встречаемости анти-HLA не отличалась от таковой, определяемой на этапе дотрансплантационного обследования.

Через год после трансплантации частота выявления анти-HLA в плазме крови увеличилась с 41 до 58%, преимущественно за счет повышения частоты встречаемости анти-HLA I (рис. 6).

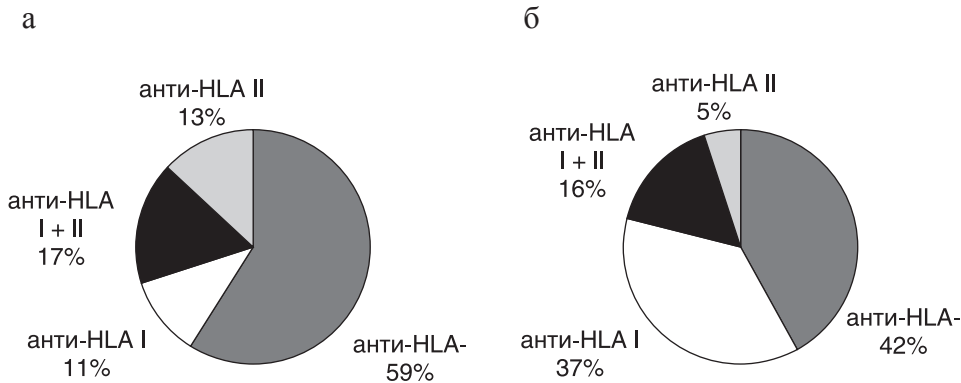


Рис. 6. Выявление анти-HLA у пациентов до (а) и через год (б) после трансплантации печени

До трансплантации, через месяц и год после трансплантации средние уровни sCD40L не отличались в группах пациентов как с наличием анти-HLA, так и без таковых. Предсуществующие анти-HLA I выявлялись преимущественно у пациентов с исходно высоким уровнем sCD40L (у 9 из 11 пациентов, 82% случаев).

Кроме того, концентрация sCD40L после трансплантации печени достоверно увеличивалась (с $3,6 \pm 1,8$ нг/мл до трансплантации до $6,6 \pm 4,6$ нг/мл через год после нее) именно у пациентов, у которых в крови выявлялись антитела к HLA (рис. 7).

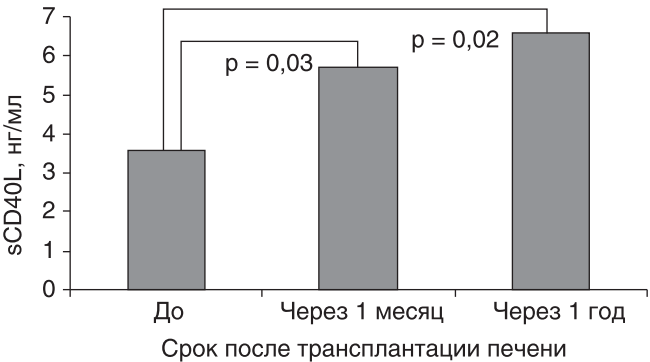


Рис. 7. Увеличение концентрации sCD40L после трансплантации печени у пациентов с выявляемыми анти-HLA

У пациентов, у которых не выявлялись анти-HLA, напротив, достоверных изменений в среднем уровне sCD40L через месяц и через год после трансплантации не обнаружено.

Представленные данные указывают на наличие связи уровня sCD40L с выявлением антител к HLA I класса и могут служить дополнительным, хотя и косвенным основанием для предположения об участии sCD40L в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента.

Динамика уровня sCD40L у реципиентов после трансплантации печени

Средний уровень sCD40L у реципиентов на 5–7-е сутки после трансплантации составил $4,2 \pm 2,7$ нг/мл и не отличался от такового, определяемого до трансплантации; на 10–14-е сутки среднее содержание маркера достигло $5,4 \pm 4,9$ нг/мл, что достоверно выше исходного уровня ($p = 0,01$). В последующем уровень sCD40L постепенно снижался и к концу первого месяца не отличался от исходного ($3,9 \pm 3,5$ и $3,2 \pm 2,3$ нг/мл, соответственно, $p = 0,07$). В отличие от реципиентов, у здоровых взрослых доноров резекция части печени не приводила к достоверным изменениям уровня этого биомаркера (рис. 8).

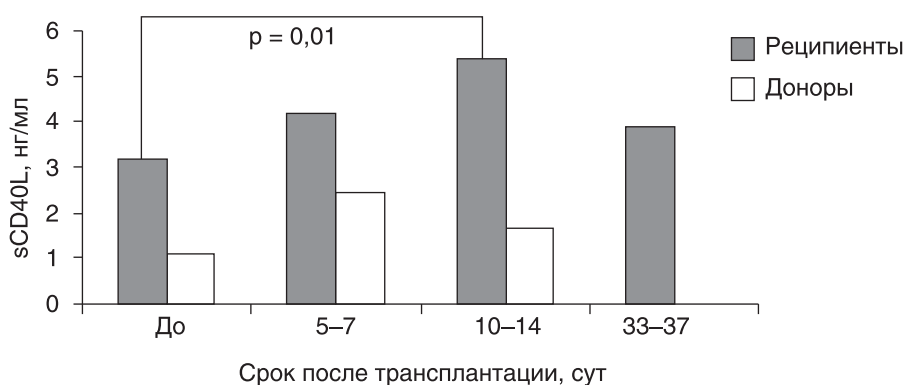


Рис. 8. Динамика уровня sCD40L в плазме крови реципиентов после трансплантации и доноров после резекции печени

Таким образом, анализ динамики уровня sCD40L в плазме крови реципиентов после трансплантации левого латерального сектора печени от живого родственного донора и split-трансплантации показал, что трансплантация печени детям с циррозом в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы сопровождается увеличением концентрации sCD40L, максимальным к концу 2-й недели после трансплантации, и последующим снижением уровня биомаркера.

Анализ связи уровня sCD40L с особенностями течения посттрансплантационного периода

Для сравнительной оценки динамики уровня sCD40L у пациентов с различным течением посттрансплантационного периода всех пациентов разделили на 4 группы, в зависимости от наличия и характера осложнений, а также от состояния функции трансплантата в течение раннего посттрансплантационного периода (до 90 дней после операции).

В первую группу, далее обозначаемую «без осложнений», включено 35 пациентов с удовлетворительной функцией трансплантата и гладким (без инфекционных, билиарных и каких-либо других осложнений) течением посттрансплантационного периода.

У 40 реципиентов в раннем посттрансплантационном периоде имели место преходящие осложнения: инфекции (30%), свищи (47,5%), несостоятельность билиодегистивного анастомоза (9%) и других, которые поддавались лечению и/или хирургической коррекции, при этом функция трансплантата в течение всего периода наблюдения была удовлетворительной. Эти пациенты составили группу, условно обозначенную «без дисфункции».

У 17 реципиентов в посттрансплантационном периоде имела место дисфункция трансплантата, развившаяся в период от 20 до 34 суток на фоне инфекционно-септических осложнений (70,6%) и тромбозов (29,4%), диагностированная на основании клинических и лабораторных данных (повышение концентрации общего билирубина, активности ферментов холестаза и цитолиза). Нарушения функции трансплантата клинически были расценены как вторичные, обусловленные указанными осложнениями. Эта группа пациентов, у которых осложнения в посттрансплантационном периоде сопровождались нарушением функции трансплантата, условно обозначена далее как «дисфункция трансплантата».

К группе, обозначенной как «отторжение», были отнесены 7 пациентов. У этих детей в сроки от 25 до 70 дней после трансплантации на основании клинических и лабораторных данных была диагностирована дисфункция трансплантата, расцененная как острое отторжение, которое было купировано после проведения пульс-терапии.

Динамика концентрации sCD40L различалась в выделенных группах пациентов.

Концентрация sCD40L в группе пациентов «без осложнений» изменялась с $2,5 \pm 1,84$ нг/мл, на этапе дотрансплантационного обследования, до $1,59 \pm 1,07$ нг/мл – на 21–23-е сутки и $3,83 \pm 2,7$ нг/мл – к концу месяца. В группах «без дисфункции» и «без осложнений» в указанные периоды наблюдения в средних уровнях sCD40L достоверных различий не выявлено. У реципиентов группы «дисфункция трансплантата» на 21–23-е сутки после трансплантации уровень sCD40L составил $2,06 \pm 1,67$ нг/мл и к 30–45-м суткам повышался до $4,84 \pm 3,64$ нг/мл; достовер-

ных различий с концентрацией sCD40L у реципиентов «без осложнений» выявлено не было. Однако средний уровень sCD40L в этой группе реципиентов до трансплантации ($3,75 \pm 2,69$ нг/мл) был достоверно выше такового у реципиентов группы «без осложнений» (рис. 9).

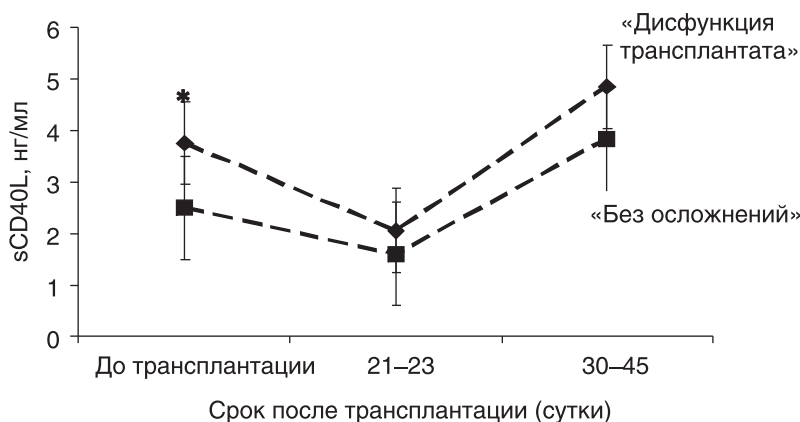


Рис. 9. Динамика уровней sCD40L у реципиентов печени групп «без осложнений» и «дисфункция трансплантата»

*— $p < 0,05$ в сравнении с уровнем sCD40L в группе «без осложнений».

У 7 реципиентов печени в раннем посттрансплантационном периоде развилось нарушение функции трансплантата предположительно иммунной природы, расцененное как острое отторжение. Средняя концентрация sCD40L у реципиентов при развитии клинической и лабораторной картины отторжения составила $9,4 \pm 3,4$ нг/мл и была достоверно выше исходного уровня. После проведения пульс-терапии и нормализации функции трансплантированной печени уровень sCD40L снижался и спустя 2–3 недели был достоверно ниже такового, определяемого в период проявления дисфункции трансплантата, расцененной как острое отторжение (рис. 10).

Таким образом, согласно полученным данным, развитие острого отторжения сопровождается резким, более чем вдвое, увеличением уровня sCD40L и достоверным снижением концентрации этого биомаркера после лечения.

Во всех описанных случаях отторжение было диагностировано на основании клинических и лабораторных данных и не было подтверждено результатами морфологического исследования биоптата. Однако в настоящем исследовании удалось проследить динамику sCD40L у пациентки К., с острым гуморальным отторжением, развившимся спустя 2,5 года после трансплантации левого латерального сектора печени от родственного донора (бабушки) и подтвержденным данными иммуноморфоло-

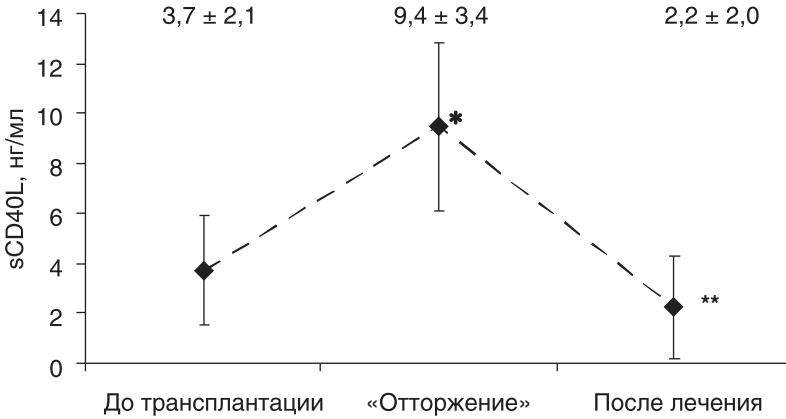


Рис. 10. Динамика уровня sCD40L у реципиентов печени группы «отторжение»

* – $p = 0,014$ в сравнении с уровнем sCD40L до трансплантации;
 ** – $p = 0,004$ в сравнении с уровнем sCD40L при клинических проявлениях

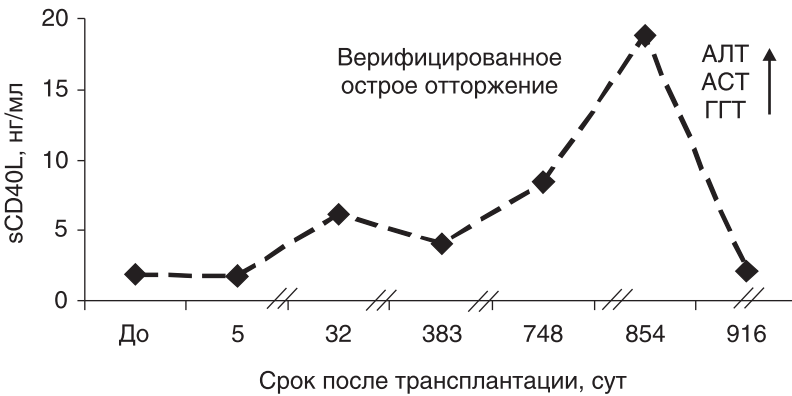


Рис. 11. Динамика уровня sCD40L у реципиентки К. с острым отторжением, возникшим через 2,5 года после трансплантации

гического исследования биоптата. Развитие острого отторжения у этой пациентки сопровождалось резким, 3–4-кратным, увеличением концентрации sCD40L с последующим ее снижением (рис. 11).

Представленные данные являются косвенным подтверждением сделанного заключения о связи увеличения уровня sCD40L с иммунной природой дисфункции трансплантата (отторжением).

Для оценки прогностического значения sCD40L провели сравнительный анализ течения посттрансплантационного периода в зависимости от

уровня sCD40L до трансплантации: выше и ниже медианы распределения – 2,6 нг/мл.

Из 42 пациентов с исходно высоким ($\geq 2,6$ нг/мл) уровнем sCD40L осложнения, сопровождающиеся нарушением функции трансплантата, развились у 11 пациентов (26%), а из 57 пациентов с исходно низким уровнем sCD40L – у шести (10%). Сравнительный анализ выживаемости без нежелательных событий показал достоверные различия в группах пациентов с исходным уровнем sCD40L выше и ниже медианы распределения ($p = 0,03$).

Оценка связи уровня sCD40L, определяемого на этапе дотрансплантационного обследования, с прогнозом развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата, показала, что исходно высокий уровень sCD40L, определяемый на этапе дотрансплантационного обследования, имеет негативное прогностическое значение в отношении развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции пересаженной печени (рис. 12).

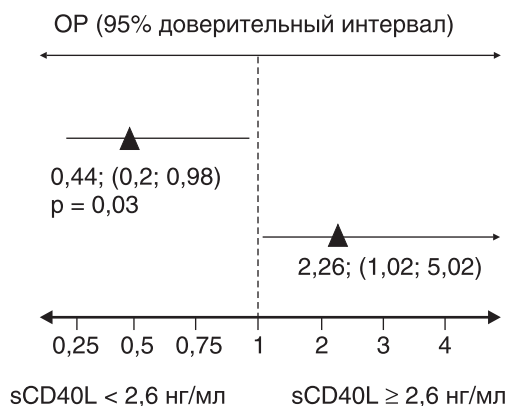


Рис. 12. Относительный риск (ОР) развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата, у пациентов с исходно высоким ($\geq 2,6$ нг/мл) и исходно низким ($< 2,6$ нг/мл) уровнем sCD40L

При расчете величины относительного риска (ОР) установлено, что у пациентов с исходно высоким уровнем sCD40L ($\geq 2,6$ нг/мл) риск развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата, оказался в 2,26 раза выше (95% доверительный интервал попадал в пределы 1,02–5,02, $p = 0,03$ по Фишеру), чем у пациентов с исходно низким ($< 2,6$ нг/мл) уровнем sCD40L.

Результаты настоящей работы показали, что sCD40L является не зависимым от других лабораторных показателей – биохимических, коагуло-

логических и общего анализа крови, биомаркером. Обнаруженная связь уровня sCD40L с количеством лимфоцитов крови, наличием антител к антигенам системы HLA и уровнем гомоцистеина может указывать на участие лиганда CD40 в иммунных и метаболических процессах при циррозе печени и после трансплантации печени детям раннего возраста. Изменения концентрации sCD40L после трансплантации связаны с особенностями течения посттрансплантационного периода, а величина уровня sCD40L, определяемого на этапе дотрансплантационного обследования, имеет прогностическое значение.

ВЫВОДЫ

1. У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы уровень sCD40L ниже, чем у здоровых детей того же возраста. Концентрация sCD40L в плазме крови не зависит от пола, но зависит от возраста: у здоровых взрослых содержание биомаркера ниже ($1,07 \pm 1,1$ нг/мл), чем у детей младшего возраста ($4,7 \pm 2,3$ нг/мл; $p = 0,001$).
2. Концентрация sCD40L в плазме крови не зависит от биохимических (содержание альбумина, билирубина, креатинина, активности ферментов, отражающих состояние гепатобилиарной системы), коагулологических (активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновый индекс, концентрация фибриногена, антитромбина III) и большей части показателей общего анализа крови (количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина), но находится в обратной зависимости ($r_s = -0,22$; $p = 0,042$) от содержания лимфоцитов.
3. Уровень sCD40L в плазме крови детей с циррозом печени не зависит от концентрации биомаркеров воспаления (С-реактивного белка), активации клеток иммунной системы (sCD30, неоптерина) и апоптоза (sFas, sFasL).
4. Содержание sCD40L в плазме крови детей с циррозом печени коррелирует с концентрацией гомоцистеина ($r_s = 0,28$; $p = 0,01$); гипергомоцистеинемия имеет место у 27% пациентов. У детей с гипергомоцистеинемией и исходно высоким уровнем sCD40L чаще развиваются посттрансплантационные осложнения, сопровождающиеся нарушением функции трансплантата.
5. У детей с циррозом печени при исходно высоком уровне sCD40L частота встречаемости предсуществующих антител к HLA I класса выше (82%), чем при исходно низком (18%) уровне этого биомаркера; увеличение концентрации sCD40L после трансплантации связано с наличием антител к HLA, что может указывать на участие sCD40L в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента.

6. Трансплантация печени сопровождается повышением концентрации sCD40L в плазме крови детей-реципиентов, с максимальным значением к концу 2-й недели после трансплантации и последующим снижением. Динамика sCD40L зависит от особенностей течения посттрансплантационного периода: развитие острого отторжения сопровождается резким увеличением уровня sCD40L и его снижением после успешного лечения.
7. Уровень sCD40L, определяемый на этапе дотрансплантационного обследования, имеет прогностическое значение: у детей с исходно высоким ($\geq 2,6$ нг/мл) уровнем sCD40L риск развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата, в 2,26 раза выше, чем у пациентов с исходно низкой ($< 2,6$ нг/мл) его концентрацией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На этапе дооперационного обследования у реципиентов печени измерение уровня sCD40L позволяет выделить группу пациентов с высоким риском развития осложнений, сопровождающихся нарушением функции трансплантата.

У реципиентов печени при наличии соответствующей клинической картины и изменений лабораторных показателей, обнаружение в плазме крови высокого уровня sCD40L можно использовать в качестве дополнительного признака, указывающего на развитие острого отторжения.

При обследовании реципиентов печени в отдаленные сроки после трансплантации определение уровня sCD40L может быть использовано для мониторинга течения посттрансплантационного периода.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Шевченко О.П., Гичкун О.Е., Кунцевич Н.В. и соавт. Связь между уровнем sCD40L и характером течения посттрансплантационного периода у реципиентов печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Том XII. – С. 126–127.
2. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Диатроптов М.Е., Кунцевич Н.В., Макарова Л.В., Пищулина М.Э., Гичкун О.Е. и соавт. Клиническая эффективность и перспективы анализа биомаркеров при пересадке печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – № 2. – С. 28–29.
3. Гичкун О.Е. Маркеры Fas-опосредованного апоптоза у детей с заболеваниями гепатобилиарной системы // Лаборатория – 2011. – № 1. – С. 24.
4. Гичкун О.Е. (Долгов В.В., Готье С.В.). Прогностическое значение sCD40L и анти-HLA антител у детей после трансплантации печени» Тезисы IV Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения – 2011», 7–9 декабря 2011 г. – С. 115.

5. *Шевченко О.П., Гичкун О.Е., Долгов В.В.* и соавт. Трансплантация печени: роль растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) и антител к HLA // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 9. – С. 89.
6. *Шевченко О.П., Цирульников О.М., Бугров А.В., Лурье Ю.Э., Цирульникова И.Е., Мнацаканян Д.С., Гичкун О.Е., Готье С.В.* Инсулиноподобный фактор роста-1 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – № 1. – С. 50–55.
7. *Шевченко О.П., Цирульников О.М., Гичкун О.Е., Макарова Л.В., Цирульникова И.Е., Ахаладзе Д.Г., Шмерко Н.П., Готье С.В.* Прогностическое значение sCD40L при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – № 2. – С. 15–19.
8. *Шевченко О.П., Гичкун О.Е., Цирульников О.М., Ахаладзе Д.Г., Макарова Л.В., Шмерко Н.П., Долгов В.В., Готье С.В.* Уровень растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) коррелирует с количеством лимфоцитов у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – С. 160.
9. *Шевченко О.П., Долгов В.В., Гичкун О.Е., Кунцевич Н.В., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Гомоцистеин при трансплантации печени детям раннего возраста // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – № 4. – С. 44–47.
10. *Долгов В.В., Гичкун О.Е., Шевченко О.П., Кунцевич Н.В.* Иммуноферментный анализ антител к HLA-антигенам // Лаборатория. – 2012. – № 5. – С. 8–9.
11. *Gautier S.V., Tsirulnikova O.M., Ammosov A.A., Gichkun O.E.* et al. Pediatric living donors liver transplantation: soluble CD40 ligand as an early predictor of graft dysfunction // Transplantation. – 2010. – Vol. 90. – Issue 12. – P. 853.
12. *Shevchenko O.P., Tsirulnikova O.M., Gichkun O.E.* et al. Plasma levels of soluble CD30 and CD40L in pediatric patients after liver transplantation. 21st International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 15–19 May, 2011, Berlin, Germany, Book Abstracts, P. 593.
13. *Gautier S.V., Tsirulnikova O.M., Gichkun O.E.* et al. Elevated plasma levels of soluble CD30 and CD40L are associated with graft dysfunction in pediatric liver recipients // Pediatric Transplantation – 2011. – Vol. 15 – Suppl. 1. – P. 58.
14. *Gautier S.V., Tsirulnikova O.M., Gichkun O.E.* et al. The association between pretransplant soluble CD40 ligand plasma levels, the presence of anti-HLA antibodies and graft dysfunction in pediatric living donor liver transplant recipients // Transplant International. – 2011. – Vol. 24. – Issue 2. – P. 91.

Глушкова Татьяна Владимировна

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ КСЕНОПЕРИКАРДИАЛЬНЫХ БИОПРОТЕЗОВ ДЛЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ (экспериментальное исследование)

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Сибирского отделения РАМН

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Журавлева Ирина Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Для коррекции врожденных и приобретенных пороков сердца используют различные биологические протезы, изготовленные из аортального клапана свиньи и перикарда крупного рогатого скота. Наиболее распространенным консервантом для стабилизации биологической ткани остается раствор глутарового альдегида (ГА). Одной из основных причин дисфункций ГА-обработанных биопротезов является первичная тканевая несостоятельность, связанная с кальцификацией (Carrel T., 2004). Научная гипотеза, согласно которой структурные трансформации коллагеновой матрицы под действием ГА определяют способность биоматериала к накоплению кальциевых солей, привела к замене ГА на диглицидиловый эфир этиленгликоля (ДЭЭ), что, в свою очередь, способствовало сниже-

нию риска кальцификации биопротезов клапанов сердца у взрослых пациентов. Однако у детей частота развития кальцификации остается высокой, даже при использовании эпоксидной консервации (Латыпов А.К., 2005). Данная проблема требует поиска новых путей решения. В мировой практике известен клинический опыт применения соединений из класса дифосфонатов для антикальциевой обработки биоматериала, консервированного ГА (Webb C.L., 1988, Эльгудин Я.Л., 1992). Дифосфонаты являются аналогами пирофосфата – природного ингибитора кальция, и в иммобилизованном состоянии в значительной степени препятствуют кальцификации биоматериала (Connolly J.M., 2004). Применение дифосфонатов может оказаться перспективным для дополнительной обработки ДЭЭ-консервированного биоматериала с целью максимального подавления его кальций-связывающей активности.

По результатам клинического применения биологических протезов была отмечена различная интенсивность кальцификации биоматериалов, в зависимости от тканевой принадлежности. При реоперациях по поводу дисфункций клапаносодержащих кондуитов, имеющих в своем составе перикард, створки аортального клапана (АК) и стенку аорты, кальциевые депозиты отмечены в основном в стенке аорты, реже – в створках АК, перикардальная часть практически всегда остается интактной (Акатов В.С., 2002). Данный факт послужил предпосылкой для изучения возможности использования ксеноперикарда в качестве основного биоматериала при изготовлении эпоксиобработанных биопротезов клапанов сердца и клапаносодержащих кондуитов.

Использование ксеноперикарда при моделировании кардиоваскулярных биопротезов ставит перед производителями проблему точности воспроизведения каждого элемента при раскрое. Использование как стандартных режущих инструментов (скальпеля, ножниц), так и вырубных матриц приводит к отклонению от формы лекал, что усложняет процесс моделирования биопротеза. Кроме этого, возможны краевые надсечки, являющиеся негативным фактором для клапана, функционирующего в условиях длительной циклической нагрузки. В настоящее время для высокоточного раскроя различных материалов небиологического происхождения используют лазерные технологии (Вейко В.П., 2001). В связи с этим представляется перспективным применить лазерные технологии для раскроя биологического материала.

Потенциальная устойчивость ксеноперикарда к кальцификации, выявленная в клинической практике, нуждается во всестороннем экспериментальном подтверждении. Представляется целесообразным создание клапанных биопротезов из эпоксиобработанного ксеноперикарда. Кальций-связывающая активность данного биоматериала может быть дополнительно снижена модификацией 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислотой. Использование лазерных технологий может явиться

перспективным подходом в разработке методов высокоточного раскроя ксеноперикарда при создании кардиоваскулярных биопротезов.

Цель исследования

Обосновать в эксперименте применение новой технологии антикальциевой обработки и лазерного раскроя при изготовлении ксеноперикардальных эпоксиобработанных биопротезов для сердечно-сосудистой хирургии.

Задачи исследования

1. Выполнить сравнительную оценку кальций-связывающей активности перикарда крупного рогатого скота, стенки аорты и створок аортального клапана свиньи, консервированных диглицидиловым эфиром этиленгликоля.
2. Оценить влияние иммобилизованной 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислоты на кальций-связывающую активность эпоксиобработанных биоматериалов различной видовой и тканевой принадлежности.
3. Изучить влияние антикальциевой обработки на структуру, физико-механические свойства и гемосовместимость биоматериала, консервированного диглицидиловым эфиром этиленгликоля.
4. Оценить воздействие излучения различных лазеров на структуру биоматериала в области среза. Выбрать оптимальные параметры лазерного излучения для создания промышленной установки картирования и раскроя биоматериала.

Новизна исследования

Впервые проведена оценка сшивающей активности диглицидилового эфира этиленгликоля в отношении стенки аорты.

Впервые проанализирована в сравнительном аспекте кальций-связывающая активность перикарда крупного рогатого скота, створок аортального клапана и стенки аорты свиньи, консервированных глутаровым альдегидом и диглицидиловым эфиром этиленгликоля.

Впервые исследован антикальциевый эффект 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислоты, иммобилизованной на биоматериале, консервированном диглицидиловым эфиром этиленгликоля.

Впервые изучено воздействие 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислоты на структуру, физико-механические свойства и гемосовместимость биоматериала, консервированного диглицидиловым эфиром этиленгликоля.

Впервые изучена возможность использования лазерных технологий для раскроя эпоксиобработанного биоматериала.

Впервые в мировой практике лазерное излучение применено для раскроя ксеноперикарда при изготовлении кардиоваскулярных биопротезов.

Практическая значимость работы

Экспериментально обоснован выбор биоматериала для изготовления кардиоваскулярных биопротезов с низкой кальций-связывающей активностью. Разработан способ антикальциевой модификации биоматериала, консервированного диглицидиловым эфиром этиленгликоля.

Определены оптимальные режимы лазерного излучения для раскроя биоматериала при моделировании кардиоваскулярных биопротезов из ксеноперикарда. На основе полученных результатов совместно с Институтом лазерной физики Сибирского отделения РАН созданы установки «МЕЛАЗ» и «МЕЛАЗ-1» для раскроя биоматериала.

Разработанные технологии антикальциевой модификации и лазерного раскроя биоматериала внедрены ЗАО «НеоКор» (Россия) в серийное производство ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца с 2008 г. (Протез клапана сердца ксеноперикардальный биологический консервированный монтированный на гибком опорном каркасе «ЮниЛайн» по ТУ 9444-010-57628698-2008).

Положения, выносимые на защиту

1. Перикард крупного рогатого скота и створки аортального клапана свиньи, консервированные диглицидиловым эфиром этиленгликоля, обладают более низкой кальций-связывающей активностью, по сравнению с эпоксиобработанной стенкой аорты свиньи.
2. 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновая кислота в иммобилизованном состоянии достоверно снижает кальций-связывающую активность перикарда крупного рогатого скота и створок аортального клапана свиньи, консервированных диглицидиловым эфиром этиленгликоля.
3. Использование лазерного раскроя ксеноперикарда делает процесс изготовления кардиоваскулярных биопротезов более технологичным. В качестве активной среды лазера для раскроя ксеноперикарда могут быть использованы алюмоиттриевый гранат, легированный эрбием, и углекислый газ.

Публикации

По результатам диссертационного исследования опубликовано 19 работ в журналах, материалах научных съездов и конференций (из них 2 статьи в журналах, рецензируемых ВАК), а также получен патент РФ на изобретение. Список прилагается.

Апробация работы

Материалы диссертации представлены на Региональной научно-практической конференции с Международным участием «Актуальные проблемы сердечно-сосудистой хирургии» (Кемерово, 2006 г.), где автор заняла I место на конкурсе молодых ученых с работой «Обоснование новой модели ксеноперикардального клапансодержащего кондуита», на XIII и XVI Всероссийских съездах сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2007, 2010 гг.), XVII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2010 г.), Международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» совместно с V Международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку, XVII ежегодной научно-практической конференцией «Актуальные вопросы кардиологии» (Тюмень, 2010 г.). Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы сердечно-сосудистой патологии» (Кемерово, 2010 г.).

Структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов и практических рекомендаций; содержит 3 таблицы, 31 рисунок. Указатель литературы включает 189 работ, в том числе 102 зарубежные.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании был использован биоматериал, применяемый в производстве кардиоваскулярных биопротезов: перикард крупного рогатого скота (КРС), створки АК и стенка аорты свиньи. Базовую консервацию исследуемых образцов осуществляли: 0,625% раствором глутарового альдегида (Барбараш Л.С., 1995) (контрольная серия) и 5% раствором диглицидилового эфира этиленгликоля (патент РФ № 2008767).

Аминокислотный состав биоматериала, консервированного ДЭЭ (n = 30) исследовали на автоматическом аминокислотном анализаторе «Hitachi-835» (Япония). Данный раздел работы выполнен в ГУ НИИФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, г. Москва (зав. отделом хроматографии, д. х. н. Л.А. Баратова).

Для антикальциевой модификации биоматериала, консервированного ДЭЭ, использовали 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновую кислоту (АОПДФК). Дифосфонат синтезирован в Институте катализа им. Г.К. Борескова СО РАН (г. Новосибирск). Модификацию образцов проводили в одну и четыре стадии 0,15% раствором АОПДФК, приготовленным на 0,9% растворе хлорида натрия при комнатной температуре. При одностадийной обработке образцы помещали в раствор АОПДФК на 4 ч с

последующей отмывкой от несвязанного дифосфоната и помещением в консервант. При четырехстадийной модификации образцы помещали в раствор АОПДФК на 3 ч, после чего переносили в консервирующий раствор на 12 ч. Данный процесс повторяли 4 раза, перед последним помещением в консервант образцы биоматериала отмывали от несвязанного дифосфоната.

Количество дифосфоната, иммобилизованного на биоматериале в процессе модификации в 1-й и 4-й стадии, оценивали микрометодом Бартлетта по количеству дифосфонатного фосфора. Для контроля использовали образцы с базовой консервацией ($n = 60$). Оптическую плотность проб измеряли на кинетическом спектрофотометре UV/VIS Ultraspek Plus (LKB-Pharmacia) ($\lambda = 830$ нм). Концентрацию фосфора в пробе определяли по калибровочному графику, построенному в интервале 1–10 мкг.

Кальций-связывающую активность биоматериала, в зависимости от базовой консервации и дополнительной модификации, изучали на стандартной модели ускоренной кальцификации, путем подкожной имплантации исследуемого материала крысам-самцам субпопуляции Wistar. Для сравнительного анализа антикальциевой эффективности при обработке в 1-й и 4-й стадии количество кальция определяли на 60 и 90 сутки после имплантации. Для оценки пролонгированного действия АОПДФК обработку биологического материала осуществляли в одну стадию. Срок имплантации биоматериала составил 60, 120 и 180 суток. Количество кальция определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра «Perkin Elmer»-5100 (USA), расчет производили на 1 г сухой ткани ($n = 920$). Количество накопленного кальция оценивали относительно уровня неимплантированного биоматериала.

Исследования физико-механических свойств биоматериала в сравнительном аспекте после базовой консервации и антикальциевой модификации ($n = 200$) выполнены совместно с лабораторией химии и технологии материалов для сердечно-сосудистой хирургии НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева (г. Москва) (руководитель лаборатории – профессор С.П. Новикова). В качестве второго контроля использовали нативный биоматериал. Испытания проведены на универсальной испытательной машине «Zwick/roell»-2.5N (Германия), в условиях одноосного растяжения образцов, в соответствии с ГОСТ 270-75. При оценке физико-механических свойств биоматериала учитывали показатели прочности и упруго-деформативных свойств.

Влияние модификации АОПДФК на гемосовместимость эпоксиобработанного биоматериала оценивали *in vitro* в сравнительном аспекте с ксеноперикардом, консервированным ГА, ДЭЭ и с эпоксиобработанным ксеноперикардом, модифицированным нефракционированным гепарином (НФГ), выбранным в качестве материала с доказанной высокой гемосовместимостью (Кудрявцева Ю.А., 2010).

Агрегацию тромбоцитов оценивали после контакта образцов с кровью в течение 3 мин. Агрегацию индуцировали раствором АДФ с концентрацией 1,25 мкг/мл. Скорость (%/мин) и максимум (%) агрегации тромбоцитов измеряли на полуавтоматическом анализаторе АРАСТ 4004 (LABiTec, Германия). В качестве контроля использовали показатели агрегации тромбоцитов, не имевших контакта с поверхностью биоматериала ($n = 60$).

Тромбогенность биоматериала оценивали по динамике пристеночного тромбообразования, используя экспресс-метод, разработанный С.П. Новиковой с соавторами 1991г., модифицированный для плоских объектов (Кудрявцева Ю.А., 1997). Время контакта образцов с кровью составило 20, 40 и 60 мин ($n = 180$).

Цитотоксичность оценивали по величине гемолиза, индуцированного биоматериалом. Исследуемые образцы ($n = 60$) инкубировали в растворе 0,9% NaCl при 37 °C в течение 120 мин, затем добавляли 200 мкл свежей цитратной крови, и повторно инкубировали 60 мин. После этого раствор центрифугировали и измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре.

Структуру биоматериала исследовали методом световой микроскопии с окраской препаратов гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизон ($n = 75$). Гистологические препараты исследовали с помощью микроскопа МИКМЕД-2 («ЛОМО», Санкт-Петербург), при увеличении $\times 100$ и $\times 400$.

Методом световой микроскопии было изучено влияние модификации АОПДФК на структуру эпоксиобработанного перикарда КРС и створок АК. Также методом световой микроскопии исследовали влияние способа раскроя на структуру биоматериала в зоне среза.

Для раскроя использовали перикард КРС, консервированный ДЭЭ. Раскрой производили стандартными хирургическими инструментами – ножницами и скальпелем, а также вырубной матрицей и лазерами с различными параметрами излучения. Использовали лазеры на алюмоиттриевом гранате, легированные неодимом (Nd:YAG) и эрбием (Er:YAG), генерирующие излучение на длинах волн 1,06 и 2,9 мкм, соответственно, и газовый углекислотный лазер (CO₂-лазер) с длиной волны генерации 10,6 мкм.

Обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами статистики при помощи пакета прикладных программ для обработки медицинской и биологической информации «STATISTICA 6.0» (StatSoft, Inc., USA). Все данные представлены как средние значения (M) и стандартная ошибка среднего ($\pm m$). Характер распределения определяли при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении переменных для определения различий между двумя независимыми группами использовался t-критерий Стьюдента, а при не-

правильном распределении – непараметрический критерий Манна–Уитни. В случае множественных сравнений проводили попарно сравнение групп с использованием непараметрического теста Манна–Уитни, применяя поправку Бонферрони при оценке значения p . Достоверными считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ БИОМАТЕРИАЛА РАЗЛИЧНОЙ ВИДОВОЙ И ТКАНЕВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Сравнительный анализ аминокислотного состава стенки аорты, перикарда КРС и створок АК после консервации ДЭЭ

При консервации всех видов биоматериала с использованием ДЭЭ в поперечную сшивку белков вступают лизин (Lys), оксилизин (OH-Lys), тирозин (Tyr), метионин (Met) и гистидин (His). Количественные характеристики сшивки коллагена для створок АК и ксеноперикарда при консервации ДЭЭ были изучены ранее (Барбараш Л.С. с соавт., 1995; Кудрявцева Ю.А. 1997). В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ сшивки ДЭЭ-обработанной стенки аорты относительно створок АК и ксеноперикарда.

Было установлено, что в процессе консервации ДЭЭ сшивка коллагеновой матрицы в стенке аорты, так же, как в створках АК и ксеноперикарде, проходит по Lys, OH-Lys, His и Tyr, однако отличается вовлеченностью каждой аминокислоты в данный процесс. Кроме того, в нативной стенке аорты содержание свободных остатков OH-Lys и Lys в сумме меньше, а Tyr – больше, чем в перикарде КРС и створках АК ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1

**Относительное содержание аминокислотных остатков
в исследуемом биологическом материале на 1000 остатков в белке**

Аминокислота	Створки АК		Перикард КРС		Стенка аорты	
	Нативные	ДЭЭ	Нативный	ДЭЭ	Нативная	ДЭЭ
Met	6,7 ± 0,2	5,2 ± 0,3	6,7 ± 0,04	0,8 ± 0,04	5,53 ± 0,54	3,73 ± 0,03
Tyr	8,8 ± 0,2	2,5 ± 0,1	6,07 ± 0,14	0,8 ± 0,04	16,87 ± 0,1	0,1 ± 0,1
His	8,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1	4,43 ± 0,11	1,0 ± 0,35	2,5 ± 0,25	1,0 ± 0,03
OH-Lys	9,5 ± 0,2	0,4 ± 0,04	8,67 ± 0,36	0,53 ± 0,08	2,5 ± 0,06	0,93 ± 0,12
Lys	33,5 ± 1,2	2,3 ± 0,5	30,0 ± 0,13	1,07 ± 0,06	20,53 ± 1	0,9 ± 0,02

По суммарному убыванию концентрации Lys и OH-Lys, как показатель эффективности сшивки, биоматериал можно расположить в следующем ряду: створки АК (95,9%) > перикард КРС (93,7%) > стенка аорты

(92%). В связи с этим можно предполагать, что прочностные характеристики стенки аорты будут ниже, чем у створок АК и ксеноперикарда.

Известно, что поперечные связи с OH-Lys и Lys являются основным субстратом для образования интра- и интермолекулярной сшивки коллагена при консервации, предотвращая ферментативный лизис биоматериала после имплантации и сохраняя удовлетворительные физико-механические свойства (Барбараш Л.С. с соавт., 1995; Журавлева И.Ю. 1995).

Количественные показатели сшивки стенки аорты по His более чем в 1,4 раза уступают, а по Tug в 1,2 раза превосходят показатели сшивки по данным аминокислотам для створок АК и ксеноперикарда. Сшивка по Met характерна только для перикарда КРС.

По-видимому, качественные и количественные различия сшивки коллагена эпоксиобработанной стенки аорты, створок АК и ксеноперикарда обусловлены различным количественным соотношением коллагеновых и эластиновых волокон в составе данных видов биоматериала. Это может, в свою очередь, отражаться на трансформациях, протекающих в стенке аорты после имплантации в организм реципиента.

Сравнительная оценка физико-механических свойств биоматериала, консервированного ДЭЭ

По результатам исследования были выявлены отличия физико-механических свойств нативной стенки аорты от створок АК и ксеноперикарда, обусловленные различиями состава данных видов биоматериала (рис. 1). Прочность стенки аорты достоверно ниже, а относительное удлинение выше ($p < 0,05$), по сравнению с аналогичными показателями створок АК и перикарда КРС. Различия по пределу прочности и относительному удлинению между нативным перикардом КРС и створками АК статистически не значимы ($p > 0,05$). Все виды биоматериала различались между собой по модулю Юнга ($p < 0,05$). Уменьшение модуля Юнга наблюдали в ряду нативных материалов: створки АК > перикард КРС > стенка аорты.

Одним из основных требований к предимплантационной химической обработке биоматериала является сохранение или улучшение его физико-механических свойств. Консервация биоматериала ДЭЭ не изменила его прочностных характеристик ($p > 0,05$), однако оказала влияние на упруго-деформативные свойства. Относительное удлинение перикарда КРС и створок АК после консервации увеличивалось ($p < 0,001$), а модуль Юнга уменьшался ($p < 0,01$) относительно показателей нативного биоматериала. Для стенки аорты, напротив, после консервации наблюдали достоверное уменьшение относительного удлинения и увеличение модуля Юнга, что также связано с различиями в составе данных биоматериалов (рис. 1). Относительное удлинение и модуль Юнга являются показателями упруго-деформативных свойств, при этом снижение одного из показателей компенсируется повышением другого.

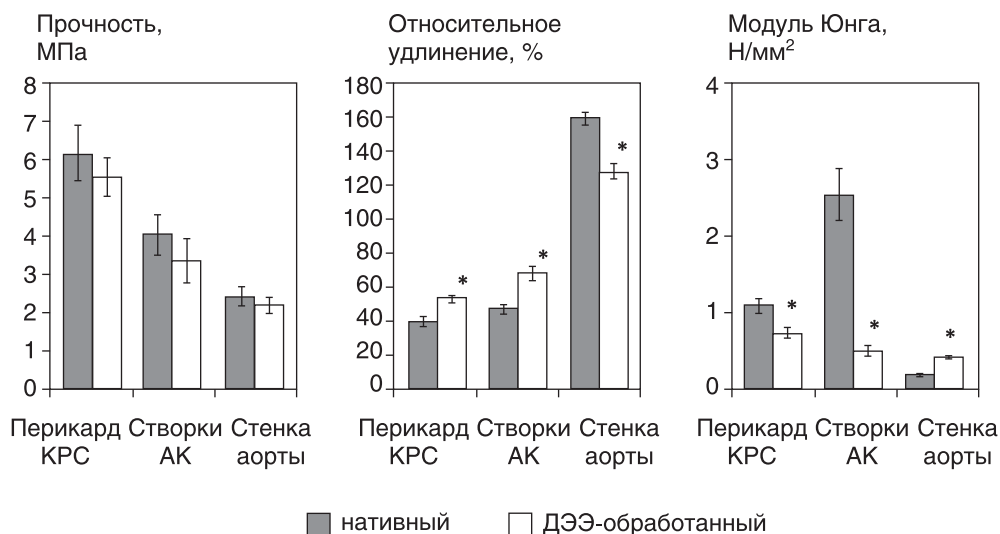


Рис. 1. Физико-механические свойства биоматериала: нативного и консервированного диглицидиловым эфиром этиленгликоля (ДЭЭ)

* – $p < 0,05$ по сравнению с показателями нативного биоматериала

Необходимо отметить, что по результатам исследования показатель прочности и относительное удлинение эпоксиобработанного ксеноперикарда идентичны данным показателям нативных створок АК, что указывает на возможность использования перикарда КРС для изготовления створчатого аппарата биопротезов клапанов сердца.

Сравнительная оценка кальций-связывающей активности биоматериалов

В работах Masumoto H. и Watanabe T. было отмечено, что кальций-связывающая активность различных видов ГА-обработанного биоматериала неодинакова, и процесс кальцификации протекает в них с различной интенсивностью (Masumoto H. et al., 2000). Патогенез кальцификации кардиоваскулярных имплантатов до настоящего времени не имеет единого теоретического обоснования. Однако количественные показатели кальцификации для ГА-обработанного биоматериала хорошо изучены клинически и экспериментально на мелких животных, в частности, крысах.

В настоящем исследовании было показано, что к 180 суткам имплантации содержание кальция в биоматериале, консервированном ГА, увеличилось более чем в 200 раз по сравнению с исходным уровнем ($p < 0,01$), что сопоставимо с данными литературы (Mirzaie M. et al., 1999; Masumoto H. et al., 2000) (рис. 2).

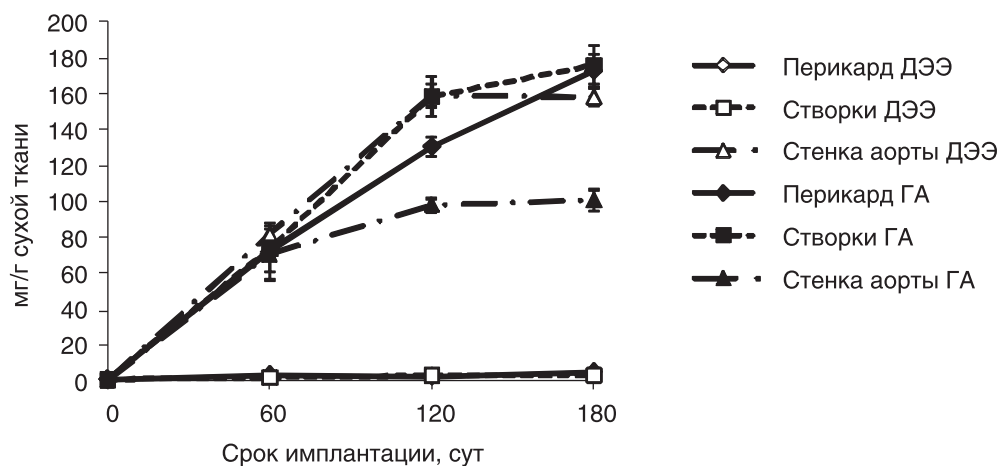


Рис. 2. Динамика накопления кальция биологическим материалом, консервированным ГА и ДЭЭ

* – $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем кальция

В сравнении с ГА-обработанным биоматериалом, ксеноперикард и створки АК, консервированные ДЭЭ, продемонстрировали низкую кальций-связывающую активность. На 180-е сутки имплантации уровень кальция в эпоксиобработанных ксеноперикарде и створках АК не превышал 5 мг/г сухой ткани ($p < 0,03$) (рис. 2). Между образцами ксеноперикарда и створок АК на всех сроках наблюдения статистически значимых различий не выявлено.

Однако по результатам исследования отмечен высокий кальций-связывающий потенциал стенки аорты, консервированной ДЭЭ (рис. 2). По количеству накопленного кальция эпоксиобработанная стенка аорты приближалась к ГА-обработанному биоматериалу.

Оценка свойств эпоксиобработанного биоматериала, модифицированного аминодифосфонатом

Несмотря на то, что створки АК и ксеноперикард, консервированные ДЭЭ, имеют низкий кальций-связывающий потенциал, риск развития отдаленных дисфункций, связанных с кальцификацией биопротезов, изготовленных из данных биоматериалов, сохраняется, особенно для пациентов молодого возраста. Одним из путей дополнительного снижения кальций-связывающей активности может служить иммобилизация ингибиторов кальцификации на биоматериале.

При антикальциевой модификации эпоксиобработанного биоматериала в одну стадию количество иммобилизованного АОПДФК составило $2,4 \pm 0,32$ мкг/г, при модификации в четыре стадии – $2 \pm 0,14$ мкг/г сухой

ткани. Можно предположить, что на первой стадии при четырехстадийной обработке АОПДФК уже занимает все реакционноспособные группы, не задействованные в процессе консервации биоткани.

Уровень кальция, накопленного в перикарде КРС и створках АК, модифицированных АОПДФК в 1 и 4 стадии, к 90 суткам имплантации не превышал 1,3 мг/г сухой ткани, что достоверно ниже, чем в немодифицированных образцах ($p < 0,05$). На протяжении всего периода наблюдения уровень кальция в модифицированных образцах не имел достоверных отличий от исходного уровня ($p > 0,05$). Не выявлено достоверных отличий и между образцами, модифицированными АОПДФК в одну и четыре стадии ($p > 0,05$). В связи с этим для долгосрочного исследования (180 суток имплантации) модификацию биоматериала АОПДФК осуществляли в одну стадию. В исследование была включена стенка аорты, как неотъемлемая часть биопротеза, изготовленного из аортального комплекса свиньи.

Согласно полученным результатам, в перикарде КРС и створках АК на протяжении всего периода наблюдения уровень кальция в модифицированных образцах не имел статистически значимых отличий от исходного уровня ($p > 0,05$) (рис. 3).

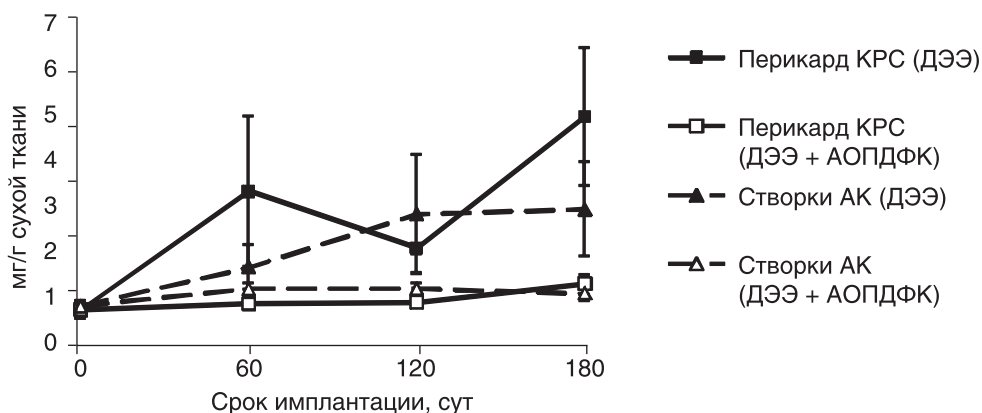


Рис. 3. Динамика накопления кальция биоматериалом, консервированным ДЭЭ, с последующей модификацией АОПДФК в 1 стадию

* – $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем кальция

Однако стенка аорты, модифицированная АОПДФК, на протяжении всего исследования демонстрировала высокую кальций-связывающую активность (рис. 4). К 180 суткам имплантации уровень накопленного кальция превысил исходный в 285 раз ($p < 0,01$). Данный результат еще раз доказал, что в случаях высокого риска кальцификации биопротеза

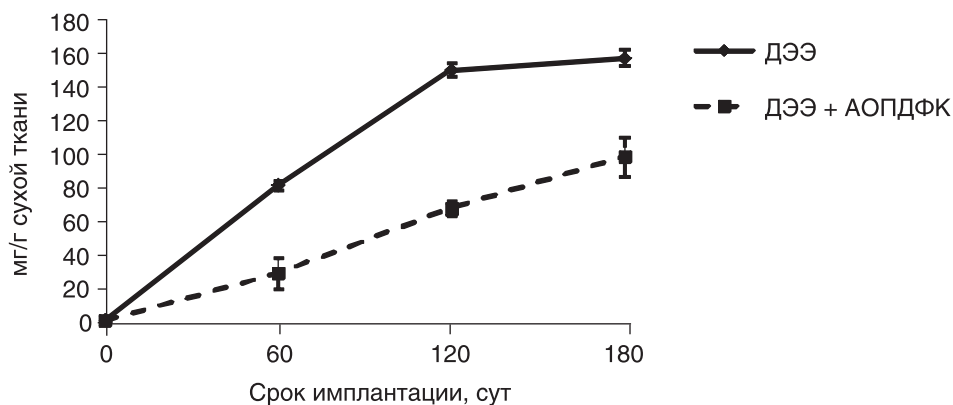


Рис. 4. Динамика накопления кальция в стенке аорты свиньи, консервированной ДЭЭ, модифицированной АОПДФК в 1-й стадии

* – $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем кальция

следует отдавать предпочтение конструкциям, не содержащим в своем составе стенки аорты.

Таким образом, обработка аминодифосфонатом ДЭЭ-консервированного перикарда КРС и створок АК способствовала значительному снижению их кальций-связывающей активности. Однако любое химическое воздействие на биологический материал, в том числе и модификация АОПДФК, может привести к изменениям его свойств. В связи с этим были проведены исследования, направленные на изучение структуры, физико-механических и гемосовместимых свойств модифицированного биоматериала.

После консервации ДЭЭ биоматериал представляет собой ткань с полностью сохранившимися эластиновыми и коллагеновыми структурами. Этот факт имеет первостепенное значение для его долгосрочного функционирования в организме пациента. Согласно результатам настоящего исследования, модификация биоматериала АОПДФК в 1-й и 4-й стадии не изменяет его структуры. В модифицированном перикарде КРС и створках АК коллагеновые волокна сохраняли извитость, были расположены компактно, равномерно воспринимали краситель. В створках АК деление на слои было сохранено. Отека, разрыхления и фрагментации коллагена не наблюдали.

Модификация АОПДФК эпоксиобработанных ксеноперикарда и створок АК вне зависимости от стадийности не отразилась на прочностных и упруго-деформативных свойствах. Достоверных отличий по прочности, относительному удлинению и модулю Юнга между группами образцов, модифицированными в 1-й и 4-й стадии не было выявлено ($p > 0,05$) (рис. 5).

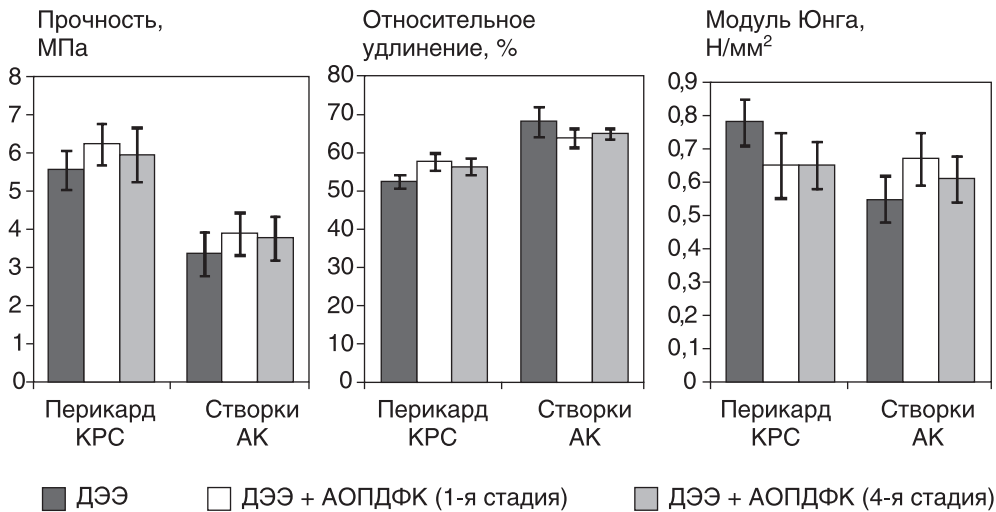


Рис. 5. Физико-механические свойства биоматериала, консервированного ДЭЭ, а также с дополнительной модификацией АОПДФ в 1-й и 4-й стадии

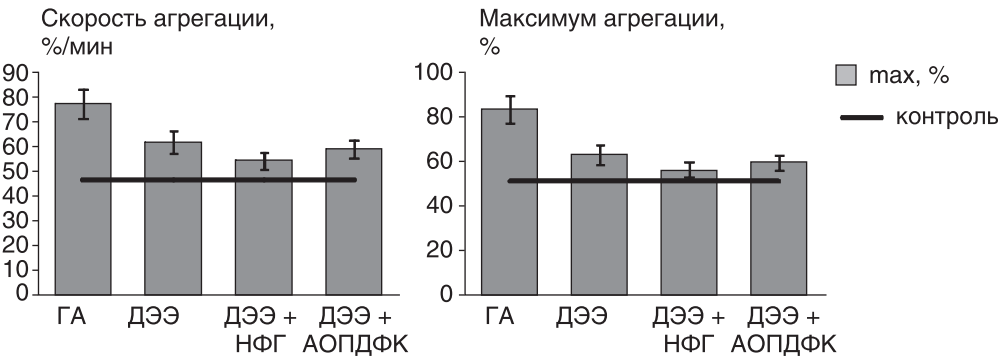


Рис. 6. Агрегация тромбоцитов после контакта с перикардом КРС

* $p < 0,05$ относительно контроля;
 ** $p < 0,05$ относительно эпоксиобработанного перикарда КРС

Что касается гемосовместимых свойств, то биоматериал при контакте с кровью вызывал достоверное повышение скорости и максимума агрегации тромбоцитов ($p < 0,05$), вне зависимости от способа обработки (рис. 6). Максимальные значения отмечены при контакте крови с поверхностью биоматериала, консервированного ГА. Скорость и максимум агрегации тромбоцитов при контакте с эпоксиобработанными образцами были ниже, чем при контакте с ГА-обработанными поверхностями, на 20

и 24,1% соответственно ($p < 0,05$). Модификация образцов эпоксиобработанного ксеноперикарда НФГ достоверно снижала показатели агрегации тромбоцитов ($p < 0,05$), что согласуется с литературными данными по агрегационной активности тромбоцитов после контакта с биопротезами ксеноартерий (Кудрявцева Ю.А., 2010г.).

Было показано, что иммобилизация АОПДФК не оказывает негативного влияния на агрегационную активность эпоксиобработанного ксеноперикарда. Скорость и максимум агрегации не имеют достоверных отличий от данных показателей, индуцированных эпоксиобработанным ксеноперикардом ($p > 0,05$).

В тесте пристеночного тромбообразования наиболее тромбогенным оказался ксеноперикард, консервированный ГА, а наименее тромбогенным – эпоксиобработанный, модифицированный НФГ (рис. 7). Ксеноперикард, консервированный ДЭЭ без модификаций, занимал промежуточное положение между этими группами образцов, достоверно отличаясь от каждой из них ($p < 0,05$).

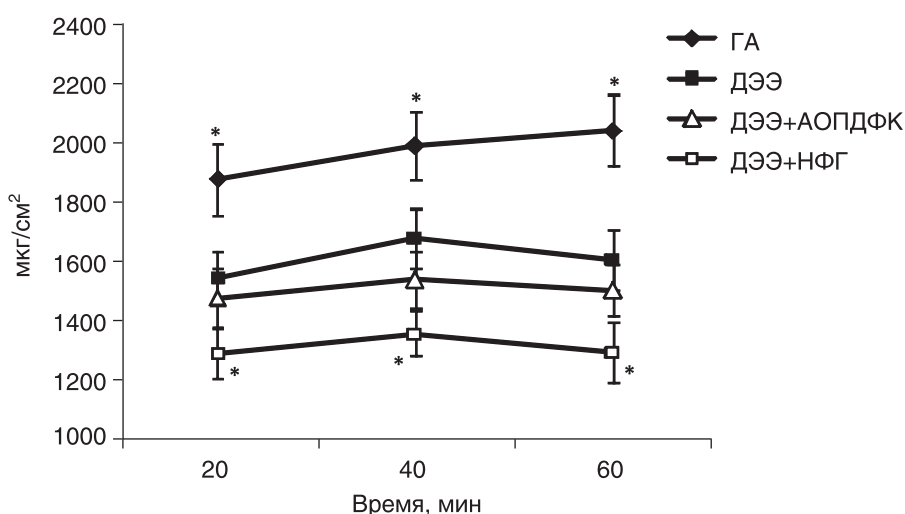


Рис. 7. Количество тромботических масс на перикарде КРС, консервированном ГА, ДЭЭ и эпоксиобработанном ксеноперикарде с дополнительными модификациями

* $p < 0,05$ относительно эпоксиобработанного перикарда КРС

Иммобилизация АОПДФК не оказывала негативного влияния на тромбогенность ксеноперикарда, консервированного ДЭЭ. Масса пристеночного тромба на ксеноперикарде с антикальциевой обработкой была достоверно меньше, чем на ГА-обработанных образцах и достоверно больше, чем на эпоксиобработанных образцах, модифицированных НФГ

($p < 0,05$). Между группами образцов эпоксиобработанного ксеноперикарда без модификации и модифицированного АОПДФК достоверных различий по массе пристеночного тромба не выявлено ($p > 0,05$).

Степень гемолиза эритроцитов при контакте с биоматериалом, как показатель цитотоксичности, также является показателем гемосовместимости.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что обработка ксеноперикарда при любом виде обработки не оказывает существенного влияния на лизис эритроцитов. Степень гемолиза при контакте со всеми видами исследуемого биоматериала не превышала допустимой величины, равной 2% (Севастьянов В.И., 1999). Наименьшая степень гемолиза была выявлена при контакте с эпоксиобработанным ксеноперикардом, модифицированным НФГ ($0,23 \pm 0,027\%$), наибольшая – при контакте с ГА-обработанным ксеноперикардом ($0,33 \pm 0,022\%$). Степень гемолиза при контакте с эпоксиобработанным ксеноперикардом составила $0,29 \pm 0,022\%$, при контакте с эпоксиобработанным ксеноперикардом, модифицированным АОПДФК – $0,27 \pm 0,025\%$. Между данными группами образцов не выявлено достоверных различий ($p < 0,05$) по степени индуцированного биоматериалом гемолиза.

Таким образом, можно сделать вывод, что эпоксиобработанный ксеноперикард обладает большей гемосовместимостью, чем ксеноперикард, консервированный ГА. Дополнительная модификация НФГ повышает гемосовместимость эпоксиобработанного ксеноперикарда, в то время как иммобилизация АОПДФК не оказывает влияния на его тромборезистентность, агрегационную активность, а также цитотоксичность.

В целом можно утверждать, что эпоксиобработанный перикард КРС с одностадийной модификацией 0,15% раствором АОПДФК является перспективным материалом для создания кардиоваскулярных биопротезов с низкой кальций-связывающей активностью, что крайне актуально для улучшения отдаленных результатов хирургического лечения врожденных и приобретенных пороков сердца.

РАСКРОЙ БИОМАТЕРИАЛА ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ КАРДИОВАСКУЛЯРНЫХ БИОПРОТЕЗОВ ИЗ КСЕНОПЕРИКАРДА

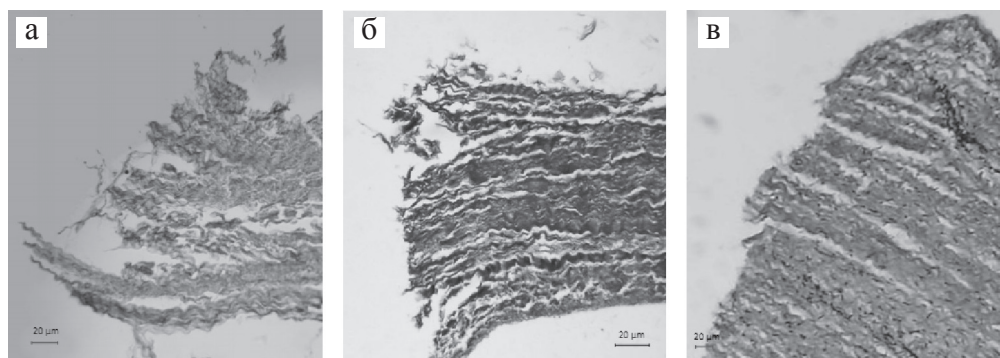
Изготовление биопротезов клапанов сердца и клапаносодержащих кондуитов из ксеноперикарда позволяет исключить из конструкции стенку аорты, имеющую высокий кальций-связывающий потенциал. Для создания объемной 3D-конструкции биопротеза из плоского ксеноперикарда разрабатывают специальные лекала (Ekholm C.R. et al., 2002). К раскрою биоматериала предъявляют ряд требований: строгое соответствие раскроенных деталей разработанным лекалам, отсутствие деструктивного

воздействия режущего инструмента на структуру биологической ткани за границей среза, однородность толщин в пределах одного элемента и условия, не допускающие пересыхания биоматериала для сохранения целостности его структуры.

В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка различных способов раскроя ксеноперикарда: с использованием стандартных инструментов (ножниц и скальпеля), вырубной матрицы и лазеров с различными параметрами излучения.

Сравнительная оценка способов раскроя биоматериала

Результаты, полученные в ходе исследования, продемонстрировали, что применение для раскроя ксеноперикарда ножниц и скальпеля приводило к отклонению от формы лекал и вызывало деструктивные изменения в виде разволокнения коллагена глубиной до 40 мкм от зоны среза (рис. 8).



**Рис. 8. Ксеноперикард, консервированный ДЭЭ.
Зона среза: а – раскрой ножницами; б – раскрой скальпелем;
в – раскрой вырубной матрицей. Окраска препаратов
пикрофуксином по Ван-Гизону. ×400**

Использование вырубной матрицы минимизировало отклонение от формы лекал, при этом зона разволокнения не превышала 5 мкм. За зоной деструкции изменений структуры ксеноперикарда не выявлено.

Полученные результаты позволяют заключить, что одним из приемлемых инструментов для раскроя ксеноперикарда при изготовлении кардиоваскулярных биопротезов является вырубная матрица. Однако данный способ раскроя не является оптимальным, так как не решает проблему однородности толщин в пределах выкраиваемого элемента. Первый шаг на пути решения данной проблемы был сделан компанией Edwards Lifesciences с помощью цветного картирования лоскута по зонам толщин

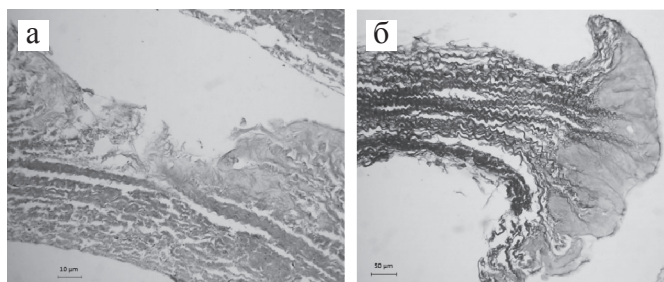
(Ekholm C.R. et al., 2003), с последующим переносом лоскута на другую поверхность для раскроя вырубной матрицей в соответствии с топографической картой толщин. Недостатком данного метода является смещение зон с определенной толщиной при переходе от картирования к раскрою. Исключение человеческого фактора при данном способе выкраивания не представляется возможным. Данные факты указывают на необходимость поиска альтернативного метода раскроя, который позволит оптимизировать процесс изготовления биопротезов для сердечно-сосудистой хирургии.

Раскрой ксеноперикарда Nd:YAG-лазером

В настоящем исследовании исходили из того, что применение лазерного излучения в составе специально разработанного прибора позволит повысить точность раскроя и технологичность процесса изготовления кардиоваскулярных биопротезов из ксеноперикарда. Данный раздел работы посвящен подбору оптимальных параметров лазерного излучения для рассечения ксеноперикарда.

На первом этапе исследования на ксеноперикард воздействовали излучением Nd:YAG-лазера ($\lambda = 1,06$ мкм), хромофором для которого в биоматериале являются биополимерные молекулы. Пятно фокусировки излучения было сведено до 40 мкм, скорость движения лазера вдоль лоскута составила 40 мм/мин, время воздействия импульса излучения на биоматериал не превышало $1,4 \times 10^{-10}$ сек. Полученные результаты продемонстрировали, что излучение Nd:YAG-лазера в диапазоне средней мощности 5–9 Вт не способно рассекать ксеноперикард по всей толщине. Рассечение достигается лишь при увеличении средней мощности до 12 Вт. Однако методом световой микроскопии в зоне воздействия излучения были выявлены деструктивные изменения ксеноперикарда в виде разрушения фиброцитов, гомогенизации и разволокнения коллагена (рис. 9). Деструктивные изменения связаны с коагуляцией коллагеновых и эластиновых волокон под действием высокой температуры, которая образуется при переходе световой энергии в тепловую в момент поглощения излучения биоматериалом. При малом коэффициенте поглощения (4 см^{-1}) излучение Nd:YAG-лазера частично проходило ткань насквозь, что сопровождалось потерей энергии. Поглощенной энергии было недостаточно для достижения температуры испарения ткани в пятне фокусировки, однако ее оказалось достаточно для нагрева биоматериала, прилегающего к зоне среза, что и привело к деструктивным изменениям. Необходимо отметить, что с увеличением средней мощности от 5 до 12 Вт увеличивалась и зона деструктивных изменений с 40 до 80 мкм.

В связи с этим можно утверждать, что Nd:YAG-лазер непригоден для раскроя ксеноперикарда, так как подобные изменения структуры являются недопустимыми при производстве кардиоваскулярных биопротезов.



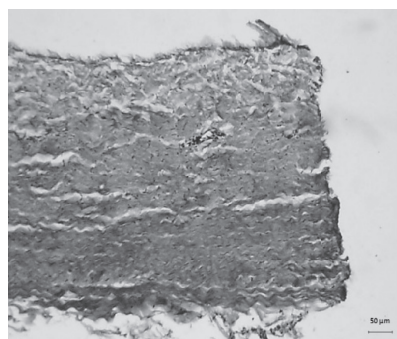
**Рис. 9. Ксеноперикард, консервированный ДЭЭ.
Зона воздействия излучения Nd:YAG-лазера средней мощностью:
а – 5 Вт; б – 12 Вт. Окраска препарата по Ван-Гизону. $\times 400$**

Раскрой ксеноперикарда Er:YAG-лазером

В дальнейшем использовали лазерное излучение на алюмоиттриевом гранате, легированном эрбием (Er:YAG), генерирующим излучение с $\lambda = 2,9$ мкм, хромофором для которого в биоматериале является вода.

Было установлено, что при использовании Er:YAG-лазера для рассеечения ксеноперикарда по всей толщине достаточно средней мощности 3 Вт. При этом скорость движения лазера была увеличена в 2 раза, по сравнению со скоростью Nd:YAG-лазера, и составила 80 мм/мин. Остальные параметры излучения не изменяли. Скорость лазерной резки является важной составляющей для внедрения технологии в производство биопротезов, так как от нее зависит время пребывания биоматериала вне раствора для хранения и, следовательно, степень его высыхания.

Результаты, полученные методом световой микроскопии, показали, что излучение Er:YAG-лазера не оказало деструктивного воздействия на биологическую ткань за областью среза (рис. 10). По краю среза выявлена кромка темного цвета, свидетельствующая о процессе карбонизации. Размер кромки не превышал 0,9 мкм, при этом коллагеновые волокна краевой зоны оставались эозинофильными.



**Рис. 10. Ксеноперикард,
консервированный ДЭЭ.
Зона воздействия излучения
Er:YAG-лазера средней мощностью 3 Вт.
Окраска препарата пикрофуксином
по Ван-Гизону. $\times 400$**

Вследствие высокого коэффициента поглощения излучение Er:YAG лазера проникало в ткань на незначительную глубину (≈ 4 мкм) (Берлиен Х.П., 1997). Энергия поглощенного излучения преобразовывалась в тепловую в малом объеме ткани, что приводило к быстрому достижению температуры испарения ткани: как жидкой, так и твердой ее фазы, и рассечению биоматериала. Кратковременность воздействия излучения (14 нс) не допускала нагрева тканей, прилегающих к зоне рассечения.

Полученные результаты доказали возможность использования Er:YAG-лазера при раскрое ксеноперикарда для изготовления биопротезов клапанов сердца.

Установка для раскроя ксеноперикарда

На основе полученных результатов совместно с лабораторией лазерных медицинских технологий Института лазерной физики СО РАН г. Новосибирска (заведующий лабораторией – А.П. Майоров) была создана установка «МЕЛАЗ» для раскроя биоматериала, режущим элементом которой стало излучение Er:YAG-лазера (рис. 11).

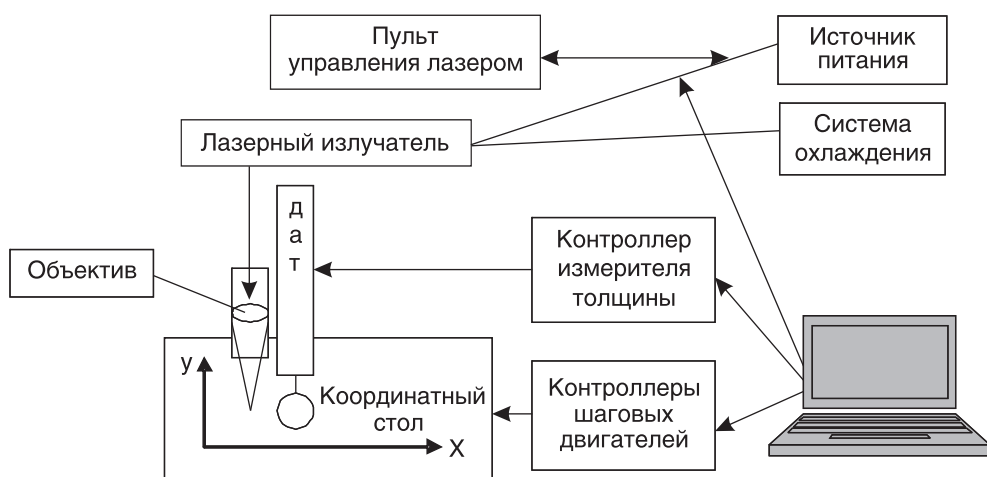


Рис. 11. Принципиальная схема лазерной установки для раскроя ксеноперикарда «МЕЛАЗ»

С целью подбора участка перикардиального лоскута для выкраивания деталей с необходимой толщиной установку оснастили механическим толщиномером. Во время сканирования толщиномер воздействует на ксеноперикард с незначительным усилием (≈ 1 г/мм²), что стандартизирует измерение, исключая сдавливание ткани, и в то же время удаляя воздушное пространство между поверхностью, на которой располагается ксеноперикард, и самим ксеноперикардом. Информация с датчика импортируется

в компьютер, где с помощью специальной программы происходит обработка данных и автоматическое цветное картирование лоскута по зонам с одинаковой толщиной (рис. 12). Карта лоскута, отображающая его толщину по зонам, выводится на монитор компьютера, что позволяет оператору выбрать участок с необходимой толщиной и виртуально расположить на нем лекала биопротеза, после чего он запускает лазер для раскроя.

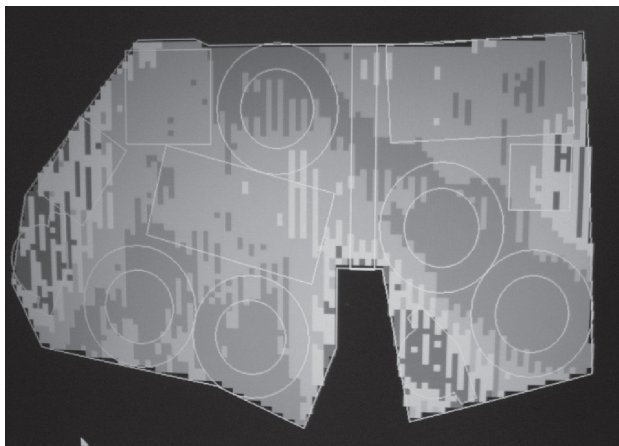


Рис. 12. Топографическая карта, отображающая толщину ксеноперикардального лоскута, кодированная по цветам. Виртуальная схема расположения элементов биологического протеза перед раскроем

Таким образом, лазерная установка обеспечивает измерение толщины перикардального лоскута с точностью 10 мкм; составление топографической карты, отображающей толщину лоскута по зонам; размещение проекции лекал в местах с соответствующей толщиной; раскрой ксеноперикарда лазером.

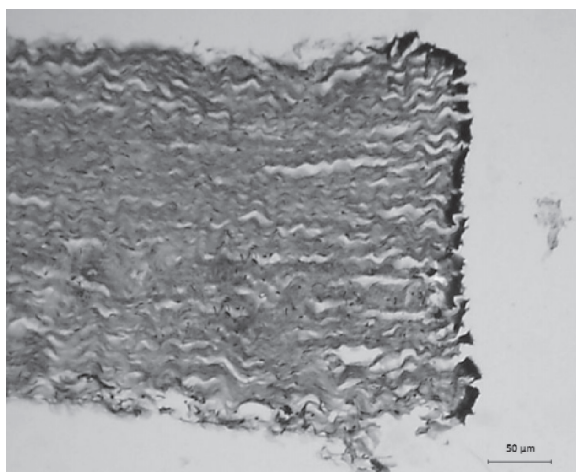
Раскрой ксеноперикарда CO₂-лазером

В процессе эксплуатации установки «МЕЛАЗ» стало очевидным, что ее производительность не соответствует требованиям производственного процесса из-за низкой скорости резки, равной 80 мм/мин. В то же время, увеличение скорости движения луча Er:YAG-лазера при заданных параметрах приводило к ухудшению качества резки – оставались непрорезанные участки ксеноперикарда. Увеличение скорости возможно либо за счет повышения мощности имеющегося лазера с данной активной средой, либо за счет замены активной среды, генерирующей лазерное излучение. В связи с этим было проведено исследование возможности использования для раскроя биоматериала более мощного CO₂-лазера с

непрерывной генерацией излучения ($\lambda = 10,6$ мкм), средней мощностью 50 Вт, хромофором для которого также является вода.

По результатам исследования было выявлено, что излучение CO_2 -лазера рассекало ксеноперикард по всей толщине лоскута, а большая средняя мощность излучения позволяла производить раскрой ксеноперикарда со скоростью 400 мм/мин, что в 5 раз превосходило скорость при использовании Er:YAG-лазера. Качество прорезывания при этом сохранялось.

Результаты, полученные методом световой микроскопии, доказали, что излучение CO_2 -лазера, как и Er:YAG-лазера, при рассечении перикарда по всей толщине не вызывало деструктивных изменений за зоной среза. Разрушения фиброцитов, гомогенизации и разволокнения коллагена не было выявлено (рис. 13).



**Рис. 13. Ксеноперикард, консервированный ДЭЭ.
Зона воздействия излучения CO_2 -лазера средней мощностью
не более 50 Вт. Окраска препаратов пикрофуксином
по Ван-Гизону. $\times 400$**

По краю среза также присутствовала темная кромка шириной до 1,2 мкм, свидетельствующая о процессе карбонизации. При этом коллагеновые волокна краевой зоны оставались эозинофильными, без деструктивных изменений. Несмотря на то, что размер карбонизированной кромки при воздействии CO_2 -лазера был немного больше, чем при воздействии Er:YAG-лазера (0,9 мкм), он значительно меньше размера деструктивных изменений, образующихся при раскрое перикарда вырубной матрицей, ножницами, скальпелем и излучением Nd:YAG-лазера.

Таким образом, использование CO_2 -лазера для раскроя ксеноперикарда с целью повышения технологичности процесса производства кардио-васкулярных биопротезов возможно.

На основании полученных результатов совместно с лабораторией лазерных медицинских технологий Института лазерной физики СО РАН г. Новосибирска (заведующий лабораторией – А.П. Майоров) была создана новая лазерная установка «МЕЛАЗ-1», которая по принципиальной схеме не имеет отличий от установки «МЕЛАЗ». Модернизация установки включала в себя замену блока лазерного излучателя и стеклянной поверхности координатного стола на металлическую с целью предотвращения взаимодействия стекла с излучением CO_2 -лазера.

ВЫВОДЫ

1. Новые подходы к изготовлению кардиоваскулярных биологических протезов из эпоксиобработанного ксеноперикарда, заключающиеся в модификации его 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислотой, а также в применении лазеров для его раскроя, являются перспективными.
2. Перикард крупного рогатого скота и створки аортального клапана свины, консервированные диглицидиловым эфиром этиленгликоля, имеют значительно ($p < 0,05$) меньший кальций-связывающий потенциал (5 мг/г сухой ткани к 180 суткам подкожной имплантации), чем стенка аорты, консервированная диглицидиловым эфиром этиленгликоля ($157,9 \pm 1,03$ мг/г к этому же сроку).
3. Модификация 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислотой эпоксиобработанного ксеноперикарда и створок аортального клапана достоверно ($p < 0,05$) снижает их кальций-связывающую активность до уровня неимплантированных образцов (менее 1 мг/г). Модификация 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислотой стенки аорты обеспечивает менее выраженный антикальциевый эффект: к 180 суткам имплантации количество кальция составляет $91,28 \pm 13,01$ мг/г.
4. Модификация эпоксиобработанных створок аортального клапана и ксеноперикарда 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислотой не оказывает негативного влияния на микроструктуру, физико-механические свойства и гемосовместимость биоматериала.
5. Излучение Nd:YAG-лазера с $\lambda = 1,06$ мкм вызывает деструктивные изменения биоматериала в виде разрушения фиброцитов, гомогенизации и разволокнения коллагена глубиной до 80 мкм от зоны среза, что делает его непригодным для раскроя ксеноперикарда при изготовлении кардиоваскулярных биопротезов.
6. Для раскроя биологического материала при изготовлении кардиоваскулярных биопротезов оптимально использование лазеров, хромофорами для которых является вода. Излучение Er:YAG-лазера с $\lambda = 2,9$ мкм и CO_2 -лазера с $\lambda = 10,6$ мкм при рассечении биоматериала не оказывает деструктивного воздействия на биологическую ткань за границей среза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Биологические протезы клапанов сердца и клапаносодержащие кондуиты, предназначенные для пациентов с высоким риском кальцификации, рекомендуется изготавливать из эпоксиобработанного перикарда крупного рогатого скота, что позволит исключить из их конструкции стенку аорты, имеющую высокий кальций-связывающий потенциал.
2. Для максимального снижения кальций-связывающей активности биоматериала, консервированного диглицидиловым эфиром этиленгликоля, эффективна его дополнительная обработка 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислотой в одну стадию: с однократным помещением биоматериала в модифицирующий 0,15% раствор 3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновой кислоты на 4 часа при комнатной температуре (22–25 °C) с последующей двукратной отмывкой в физиологическом растворе и помещением в раствор консерванта.
3. При изготовлении ксеноперикардальных биопротезов с целью повышения точности раскроя и минимизации деструктивных изменений за зоной среза целесообразно для раскроя биоматериала использовать излучение Er:YAG-лазера с $\lambda = 2,9$ мкм, средней мощностью 3 Вт, временем воздействия импульса излучения 14 нсек, а также излучение CO₂-лазера с $\lambda = 10,6$ мкм, средней мощностью 50 Вт в режиме непрерывного излучения.
4. С целью повышения производительности раскроя биоматериала следует использовать излучение CO₂-лазера, так как скорость раскроя биоматериала с использованием данного лазера составляет 400 мм/мин, что в 5 раз выше, чем при использовании Er:YAG-лазера.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК	–	аортальный клапан
АОПДФК	–	3-амино-1-оксипропилиден-дифосфоновая кислота
ГА	–	глутаровый альдегид
ДЭЭ	–	диглицидиловый эфир этиленгликоля
КРС	–	крупный рогатый скот
НФГ	–	нефракционированный гепарин
Er:YAG	–	алюмоиттриевый гранат, легированный эрбием
His	–	гистидин
Lys	–	лизин
Met	–	метионин
Nd:YAG	–	алюмоиттриевый гранат, легированный неодимом
ОН-Lys	–	гидроксизин
Tyr	–	тирозин

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Влияние различных эпоксисоединений и антикоагулянтов на структуру ксеногенного митрального клапана / **Т.В. Глушкова**, Ю.А. Кудрявцева, Б.А. Трофимов, И.Ю. Журавлева // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН IX ежегодная сессия научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева. – М., 2005. – Т. 6. – № 3. – С. 250.
2. *Веремеев А.В.* Обоснование новой модели ксеноперикардального клапан-содержащего кондуита / *А.В. Веремеев, Т.В. Глушкова* // Актуальные проблемы сердечно-сосудистой хирургии: сб. тр. регион. научно-практ. конф. – Кемерово, 2006. – С. 209.
3. Влияние различных консервантов на гемосовместимость ксеногенного митрального клапана / Ю.А.Кудрявцева, **Т.В. Глушкова**, А.Т. Титов, Л.А. Опари-на // Актуальные проблемы сердечно-сосудистой хирургии : сб. тр. регион. научно-практ. конф. – Кемерово, 2006. – С. 215.
4. Новая технология антикальциевой обработки биопротезов клапанов сердца / Ю.А. Кудрявцева, **Т.В. Глушкова**, С.В. Лосева, И.Ю. Журавлева // XIII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов: тез. докл. – М.: 2007. – Т. 8. – № 6. – С. 305.
5. Возможности использования лазерных технологий в производстве кардиоваскулярных биопротезов / **Т.В. Глушкова**, А.Ю. Бураго, В.М. Тарасов, А.М. Гончаренко, А.П. Майоров // XIII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов : тез. докл. – М., 2007. – Т. 8. – № 6. – С. 319.
6. Лазерный раскрой элементов кардиоваскулярных протезов / А.П. Майоров, В.М. Тарасов, А.М. Гончаренко, **Т.В. Глушкова**, А.Ю. Бураго // «Альманах клинической медицины» III Троицкая конференция Медицинская физика и инновации в медицине: Троицк Московской обл., 2008. – Т. 17. – Ч. 2. – С. 115.
7. Laser Cutting of Elements of Cardiovascular Prosthesis / *A. Mayorov, V. Tarasov, A. Goncharenko, I. Zhuravleva, T. Glushkova, A. Burago* // V International symposium «Modern problems of laser physics»: Novosibirsk, Russia, 2008. – P. 198.
8. Кудрявцева Ю.А. Разработка технологий повышения биосовместимости ксеноперикардальных заплат для ангиопластики / Ю.А. Кудрявцева, **Т.В. Глушкова**, И.Ю. Журавлева // Облитерирующие заболевания сосудов: проблемы и перспективы: сб. тр. всерос. научно-практ. конф. – Кемерово, 2009. – С. 119–120.
9. Глушкова Т.В. Влияние модификации аминодифосфонатом на кальций-связывающую активность эпоксиобработанного биоматериала / **Т.В. Глушкова** // Ломоносов-2010 : тез. докл. Международного молодежного научного форума. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2010. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM)
10. Кудрявцева Ю.А. Пути повышения биосовместимости ксеноперикардальных заплат для интракардиальной и ангиопластики / Ю.А. Кудрявцева, **Т.В. Глушкова**, И.Ю. Журавлева // Материалы Международного конгресса

- «Кардиология на перекрестке наук» совместно с V Международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку, XVII ежегодной научно-практической конференцией «Актуальные вопросы кардиологии». – Тюмень, 2010. – С. 153–154.
11. Предупреждение кальцификации эпоксиобработанного биоматериала с использованием аминодифосфоната / *Ю.А. Кудрявцева, Т.В. Глушкова, С.В. Лосева, И.Ю. Журавлева* // Высотехнологичные методы диагностики и лечения заболеваний сердца, крови и эндокринных органов: сб. тр. Всерос. научно-практ. конф. с международным участием. – СПб., 2010. – С. 50–51.
 12. *Кудрявцева Ю.А.* Сравнительная оценка способов модификации биоматериала аминодифосфонатом / *Ю.А. Кудрявцева, Т.В. Глушкова* // Вахидовские чтения: сб. тр. XV Республ. научно-практ. конф. – Узбекистан, 2010. – С. 10–11.
 13. *Журавлева И.Ю.* Оценка антикальциевой эффективности аминодифосфоната для обработки биологических протезов клапанов сердца / *И. Ю. Журавлева, Т. В. Глушкова, Ю. А. Кудрявцева* // Актуальные проблемы сердечно-сосудистой патологии: сб. тр. Всерос. научно-практ. конф. – Кемерово, 2010. – С. 102–103.
 14. Возможности использования лазерных технологий в производстве кардиоваскулярных биопротезов / *Л.С. Барбараи, Т.В. Глушкова, А.П. Майоров* и др. // Бюллетень Сибирского отделения российской академии медицинских наук. – Новосибирск, 2010. – Т. 30. – № 5. – С.35–39.
 15. Применение аминодифосфоната для профилактики кальцификации эпоксиобработанных биопротезов / *И.Ю. Журавлева, Т.В. Глушкова, А.В. Веремеев* и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. – М.: 2010. – № 2. – С. 18–21.
 16. Пути снижения кальций-связывающей активности биологических протезов для хирургического лечения пороков сердца / *Т.В. Глушкова* // XVI Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов: сб. тр. – М.: 2010. – Т. 11. – № 6. – С. 269.
 17. Обоснование применения CO₂-лазера в производстве кардиоваскулярных биопротезов из ксеноперикарда / *Т.В. Глушкова* // Ломоносов-2011 материалы Международного молодежного научного форума. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2011. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
 18. Обоснование выбора биоматериала при создании биопротезов для детской кардиохирургии / *Т.В. Глушкова, А.Г. Тогулева* // Проблемы медицины и биологии: сб. тр. межрегион. научно-практ. конф. молодых ученых и студентов с международным участием. – Кемерово, 2011. – С. 59–60.
 19. Use of Laser-based Technologies in Cardiovascular Bioprotheses Production / *T.V. Glushkova, A.P. Mayorov, I.Y. Zhuravleva* // European Journal Of Natural History. – 2011. – № 2. – С. 25.
 20. Способ антикальциевой обработки биологических протезов клапанов сердца: пат. 2374843 Рос. Федерация : МПК⁵¹ A 01 N 1/02 ; A 61 F 2/24 ; A 61 L 27/50 ; A 61 L 33/04 / *И.Ю. Журавлева, Л.С. Барбараи, Т.В. Глушкова*; патентообладатель Закрытое акционерное общество «НеоКор». – № 2008124123/15; заявл. 16.06.2008 ; опубл. 10.12.2009, Бюл. № 34. – 4 с.

Копылова Юлия Валерьевна

ОСТРОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЧЕК И МЕТОДЫ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2012

Работа выполнена в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Попцов Виталий Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Число операций трансплантации сердца (ТС) в России неуклонно растет. Одним из серьезных осложнений раннего послеоперационного периода является острое повреждение почек (ОПП) [Готье С.В., 2009]. У пациентов, перенесших кардиохирургические вмешательства, развитие ОПП, требующего заместительной почечной терапии (ЗПТ), сопряжено с высокой летальностью (18–80%) [Weir M.R., 2011]. Факторы риска возникновения этого осложнения после кардиохирургических вмешательств обсуждаются во множестве работ. Это предсуществующие почечная дисфункция и сердечная недостаточность, возраст, характер основного заболевания, продолжительность и адекватность искусственного кровообращения (ИК), применение вспомогательного кровообращения в послеоперационном периоде [Alkhunaizi A.M., 2011; Thakar C.V., 2005]. Однако литературные данные о факторах риска ОПП при ТС недостаточны и противоречивы [Gude E., 2010; Pham P.T., 2008].

Многочисленные исследования посвящены выбору оптимального метода ЗПТ – интермиттирующего, продленного или постоянного [Mehta R.L., 2001; Teehan G., 2003; Uehlinger D.E., 2005]. Однако убедительных свидетельств в пользу какой-либо одной методики до сих пор не получено. Недостаточно изучены гемодинамические и метаболические эффекты ЗПТ у реципиентов сердца с почечной дисфункцией, развившейся в раннем посттрансплантационном периоде, в том числе у больных, находящихся на вспомогательном кровообращении. Не определены экстраренальные показания к ЗПТ, в частности при развитии синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) и метаболических нарушений у этой группы пациентов.

Одной из современных тенденций является раннее и даже профилактическое использование ЗПТ. Имеются данные о эффективности такого подхода для снижения смертности пациентов с острым почечным повреждением [Bagshaw S.M., 2011; Sugahara S., 2004], однако результаты, полученные различными исследователями противоречивы [Karvellas C., 2011]. Кроме того, нет ясности, насколько должны быть расширены показания к применению ЗПТ. Нет и единого мнения относительно методов ЗПТ и режимов их применения, которые были бы оптимальными на различных стадиях развития болезненного процесса. Все это должно явиться предметом дальнейших исследований.

В настоящее время наибольшим опытом успешной реализации комплексной программы по развитию ортотопической трансплантации сердца в Российской Федерации обладает ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ. В то же время в нашем учреждении имеется возможность применения практически всех методов ЗПТ. Анализ особенностей развития острого повреждения почек при трансплантации сердца и опыта применения различных схем ЗПТ представляется своевременным научно-практическим исследованием, направленным на дальнейшее улучшение результатов трансплантации сердца.

Целью исследования явилось выявление факторов риска развития острого повреждения почек в раннем послеоперационном периоде трансплантации сердца и разработка оптимальной тактики проведения заместительной почечной терапии.

Задачи исследования

1. Определить частоту развития острого повреждения почек в раннем послеоперационном периоде при трансплантации сердца.
2. Выявить факторы риска развития исследуемого осложнения: дооперационные и периоперационные.
3. Определить показания к применению заместительной почечной терапии.

4. Определить оптимальные методики заместительной почечной терапии и их режимы для данной категории больных.
5. Определить влияние острого повреждения почек на выживаемость пациентов в разные сроки после трансплантации сердца.

Научная новизна работы

Представленная работа является первым отечественным научным исследованием, посвященным изучению применения заместительной почечной терапии в раннем периоде после ТС.

Впервые в отечественной практике выявлены статистически достоверные факторы риска развития ОПП у реципиентов сердечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

Подтверждена эффективность раннего применения ЗПТ для контроля волемии, предупреждения метаболических и электролитных нарушений у реципиентов сердечного трансплантата с риском развития острого повреждения почек.

Определены показания для применения различных методик ЗПТ у реципиентов сердечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

Практическая значимость работы

Достоверно определены факторы риска развития ОПП и влияние этого осложнения на выживаемость реципиентов сердечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

Определены временные интервалы начала проведения ЗПТ у реципиентов сердца.

Определены оптимальные режимы ЗПТ в раннем посттрансплантационном периоде.

Установлено, что целесообразно применять постоянные методы ЗПТ, поскольку они позволяют наиболее эффективно контролировать гемогидробаланс и поддерживать гемодинамическую стабильность пациента.

Показано, что раннее применение ЗПТ увеличивает выживаемость в группе пациентов с ОПП.

Реализация результатов работы

Результаты работы, научные выводы и практические рекомендации применяются в практической деятельности отдела анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, отделения гемодиализа, отдела кардиохирургии, трансплантации сердца и легкого ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, а также могут быть рекомендованы для использования в прак-

тической работе других кардиохирургических и трансплантологических центров.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 5 статей – в центральных рецензируемых журналах.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 10 апреля 2012 г. в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены:

- на Всероссийском конгрессе «Современные достижения и будущее анестезиологии-реаниматологии в Российской Федерации», НЦССХ им. Бакулева, Москва, 25–26 октября 2007.
- XV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов, НЦССХ им. Бакулева, Москва 6.12.2009
- 7-й Международной конференции «Актуальные вопросы экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии» НЦССХ им. Бакулева, Москва 26.05.2010
- 5-м Всероссийском съезде трансплантологов, ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, Москва 10.10.2010.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 106 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 172 источника, включая работы отечественных и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 18 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика обследованных больных

Материалом для исследования послужили данные 155 пациентов, которым была выполнена ТС в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» за период с 1995-го по 2010 год. В исследуемую группу вошли 136 мужчин и 19 женщин. Возраст реципиентов находился в диапазоне от 16 до 70 лет, в среднем ($M \pm \sigma$) $39,7 \pm 13,4$ года.

Наиболее частой причиной сердечной недостаточности (СН), потребовавшей ТС, явилась дилатационная кардиомиопатия. Эта диагноз был установлен у 100 пациентов. Ишемическая кардиомиопатия была выявлена у 52 пациентов. Рестриктивная кардиомиопатия была диагностирована у 2 пациентов. Идиопатическая гипертрофическая кардиомиопатия отмечалась у одной пациентки. Выраженность недостаточности кровообращения у обследованных пациентов определялась при помощи двух клинических классификаций СН, которые взаимно дополняют друг друга.

В соответствии с функциональной классификацией хронической СН Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA 1964 г.) функциональный класс 3 был определен у 103 и функциональный класс 4 – у 52 пациентов.

В соответствии с классификацией хронической сердечной недостаточности Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко, с современными дополнениями, у 95 реципиентов имела стадия недостаточности кровообращения 2Б, у 29 – 2А и у 31 – 3-я стадия.

Неотложность трансплантации сердца определялась в соответствии с алгоритмом первоочередности распределения донорских органов по UNOS (United Network for Organ Sharing). Статус 2 был присвоен 96 пациентам, статус 1В – 42, и статус 1А – 17 пациентам.

Всем пациентам до трансплантации сердца проводилось консервативное лечение сердечной недостаточности (сердечные гликозиды, диуретики, ингибиторы АПФ, дезагреганты, препараты калия). При рефрактерности к гликозидно-диуретической терапией осуществляли медикаментозную поддержку негликозидными инотропными препаратами (допамин и/или добутамин в суммарной дозе не более 10 мкг/кг/мин). В постоянном введении инотропных препаратов нуждались 40 пациентов; при неэффективности инотропной поддержки у 14 из них впоследствии потребовалось применение вспомогательного кровообращения.

Обход левого желудочка по схеме «левый желудочек-аорта» был установлен 5 пациентам, бивентрикулярный обход – 3, внутриаортальная баллонная контрпульсация (ВАБК) 3 пациентам. Продолжительность вспомогательного кровообращения составляла от 5 до 55 суток. Система вспомогательного кровообращения INCOR применялась у 3 больных. Длительность работы имплантированной системы до момента трансплантации сердца максимально составила 398 суток.

Определения

Предоперационное нарушение функции почек определяли как повышение концентрации креатинина сыворотки крови более 130 мкмоль/л.

Острое повреждение почек в раннем послеоперационном периоде определяли как прирост концентрации креатинина сыворотки крови на 30% и более по сравнению с предоперационным значением.

Критериями преимущественно правожелудочковой недостаточности считали:

СИ < 2,3 л/мин/м², ЗДЛА < 15 мм рт. ст., ДПП > 14 мм рт. ст., ДПП/ЗДЛА > 0,8.

Как дополнительные критерии рассматривали низкую фракцию изгнания правого желудочка (ФИ ПЖ) (менее 30%), повышенные значения его индексированных конечно-диастолического (ИКДОПЖ) и конечно-систолического (ИКСОПЖ) объемов по данным термодилуционной волюметрии, а также гипокинезию свободной стенки ПЖ и увеличение объемных показателей ПЖ по результатам транспищеводного и/или трансторакального ЭХОКГ-исследования.

Критерии преимущественно левожелудочковой недостаточности сердечного трансплантата:

СИ < 2,3 л/мин/м², ЗДЛА > 15 мм рт. ст., ДПП < 12 мм рт. ст., ДПП/ЗДЛА < 0,8 в совокупности с ЭХОКГ– признаками снижения сократительной способности миокарда левого желудочка;

Критерии тотальной (бивентрикулярной) недостаточности сердечного трансплантата: СИ < 2,3 л/мин/м², ЗДЛА > 15 мм рт.ст., ДПП > 14 мм рт. ст., ДПП/ЗДЛА < 0,8.

Показателями умеренного нарушения насосной функции сердечного трансплантата считали: потребность в допамине и/или добутаминами < 7,5 мкг/кг/мин без или в комбинации с адреналином (< 75 нг/кг/мин);

Показателями значимого нарушения – допамин и/или добутамин 7,5–20 мкг/кг/мин и адреналин (75–200 нг/кг/мин);

Показателями выраженного нарушения – допамин и/или добутамин > 20 мкг/кг/мин и адреналин > 200 нг/кг/мин с необходимостью применения различных методов вспомогательного кровообращения.

Для анализа выраженности мультиорганных нарушений в раннем посттрансплантационном периоде использовали шкалу SOFA (Sequential Organ Failure Assessment).

Методики ЗПТ

Постоянная вено-венозная гемофильтрация (ПВВГ) – метод, позволяющий обеспечить оптимальный контроль баланса жидкости и управляемость ультрафильтрацией в зависимости от показателей центральной гемодинамики. У многих пациентов имелась дисфункция правого желудочка, что требовало применения обхода правого желудочка, и что делало их особенно чувствительными к перегрузке жидкостью. Традиционно применяли постдилюционное замещение (98%) и только при необходимости ограничения дозы антикоагулянтов – преддилюционное. При стабилизации гемодинамических показателей и сохраняющейся потребности в ЗПТ ряду пациентов проводили гемодиализацию с приготовлением субстициата из диализирующего раствора в ходе процедуры (ГДФ-online)

продленную до 6–10 часов. С 2008 года появилась техническая возможность применять постоянную вено-венозную гемодиализацию (ПВВГДФ). Показанием для нее являлась недостаточная, с точки зрения коррекции азотемии, эффективность ПВВГ.

До 2007 года ПВВГ проводилась на аппаратах ADM/ABM 08, гемодифльтрах Ultraflux AV600 и AV 1000 (Fresenius Medical Care, Германия). С 2007 года ПВВГ и ПВВГДФ проводили на аппарате Multifiltrate, гемодифльтрах FX60 и FX80 (Fresenius Medical Care, Германия) с использованием замещающих растворов на основе бикарбоната.

ГДФ-online. Применяли аппараты Fresenius 4008S гемодифильтры FX60 или FX80. Использовался диализирующий раствор с повышенным содержанием кальция – 1,75 ммоль/л и с добавлением глюкозы – 10,0 ммоль/л. Концентрация калия (2,0–4,0 ммоль/л) подбиралась индивидуально. Стандартная концентрация натрия составляла 138–142 ммоль/л.

Эффективность ПВВГ оценивали по соотношению объема замещения за сутки и показателя общей жидкости организма, определяемого по номограммам.

Критерием эффективности интермиттирующих методов ЗПТ (ГДФ-online) служил показатель фракционального клиренса мочевины Kt/V.

У подавляющего большинства пациентов в качестве антикоагулянта применяли нефракционированный гепарин, который вводили в экстракорпоральный контур перед насосом крови дозированно, при помощи шприц-насоса, со скоростью, обеспечивающей показатель активированного времени свертывания крови (АВСК) в пределах 140–170 с, а в случае геморрагических осложнений – не более 100 с. Дозы гепарина составляли 3–15 МЕ/кг массы тела/ч. Стандарт лечения предполагал замену экстракорпорального контура ежедневно. Внеплановая замена производилась в случае тромбоза и при необходимости выполнения определенных лечебно-диагностических мероприятий. Традиционный гемодиализ в раннем послеоперационном периоде применяли только у двух пациентов в 1995 и 1997 годах, вследствие отсутствия технической возможности применения других методов (всего 7 процедур).

В качестве сосудистого доступа использовали двухпросветные катетеры You-Bend для высокообъемных инфузий N 12 french длиной 15 и 20 см (Arrow, США), которые устанавливали в яремную, подключичную или бедренную вену.

Биохимические показатели крови контролировали 1 раз в сутки, а показатели кислотно-основного состояния, электролитов крови и АВСК – каждые 3 часа.

Принципы и организация статистического анализа

Статистический анализ был проведен с применением программы Statistica for Windows 7.0 (Stat Soft Inc.США).

Массив данных представляет собой совокупность количественных и качественных показателей медицинских и биологических характеристик пациентов. В связи с тем, что при проведении статистического анализа было принято решение не доказывать соответствие анализируемых параметров законам нормального распределения, использовались непараметрические критерии статистического анализа.

Для выявления связи между предполагаемыми факторами риска, развитием острого почечного повреждения и потребности в заместительной почечной терапии в раннем послеоперационном периоде при трансплантации сердца нами применялись непараметрические критерии корреляции Spearman, Kendall и Gamma. Исследуемый фактор риска считали статистически достоверным, если показатель коэффициентов имел абсолютное значение $\geq 0,7$ при $p \leq 0,05$. Основной массив данных при анализе факторов риска составили данные 155 трансплантаций сердца, произведенных до 2010 года включительно.

Анализ вероятности наступления изучаемого исхода и влияния фактора развития ОПП на время до его наступления выполнялся методом Каплана–Майера. Достоверность различий кривых выживания в двух группах (2 задача) оценивалась при помощи критериев Вилкоксона–Гехана, F – критерий Кокса, логарифмический ранговый критерий, критерий Вилкоксона–Пето и Кокса–Ментела.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Факторы риска острого повреждения почек в раннем послеоперационном периоде трансплантации сердца и показания к заместительной почечной терапии.

Для проведения анализа был сформирован список предполагаемых факторов риска, составлявшийся как по данным литературы, так и на основании собственного опыта учреждения. Предполагаемые факторы риска развития ОПП после ТС были разделены на 3 группы: предоперационные, интраоперационные, послеоперационные.

В качестве предполагаемых **предоперационных** факторов рассматривали: возраст старше 55 лет, женский пол, рост, вес пациентов, основной диагноз, сопутствующие заболевания, выраженность исходной сердечной недостаточности, потребность в медикаментозной кардиотонической терапии или механической поддержке кровообращения, время ожидания сердечного трансплантата, наличие предсуществующей почечной дисфункции (ППД).

Предполагаемые **интраоперационные** факторы риска развития ОПП: продолжительность ишемии трансплантата; длительность ИК; кровопотеря и массивные гемотрансфузии во время операции; наличие выраженного внутрисосудистого гемолиза (уровень свободного гемоглобина $> 100 \text{ мг\%}$)

К предполагаемым **послеоперационным** факторам риска развития ОПП относили прежде всего нарушение насосной функции трансплантата. Критериями значимой дисфункции трансплантата считали: ДПП > 15 мм рт. ст. и/или ЗДЛА > 18 мм рт. ст., сердечный индекс < 2,5 л/мин/м², несмотря на применение допамина/добутамина в дозе > 7,5 мкг/кг/мин и/или адреналина в дозе > 75 нг/кг/мин, или необходимость использования любого вида механической поддержки кровообращения.

В результате проведенного анализа были получены следующие данные, основной массив которых приведен в табл. 1.

Предоперационные факторы развития ОПП

Возраст, пол, антропометрические показатели, наличие сахарного диабета и хронических заболеваний почек не проявили статистической значимости в качестве факторов, влияющих на частоту развития ОПП.

Была выявлена статистически достоверная взаимосвязь между наличием хронической СН 2Б – 3 стадий по классификации Стражеско – Василенко и недостаточностью кровообращения 4 функционального класса по классификации NYHA, и риском развития ОПП в раннем периоде после ТС.

У 40 (25,8%) из 155 включенных в исследование больных на дотрансплантационном этапе требовалось применение инфузионной **кардиотонической терапии** допамином в средней дозе, равной $4,8 \pm 0,3$ мкг/кг/мин, продолжительность которой в среднем составила $31,7 \pm 3,6$ суток. Достоверность влияния предтрансплантационной кардиотонической терапии на развитие ОПП в посттрансплантационном периоде статистически не была подтверждена.

У 14 (9%) пациентов в связи с неэффективностью кардиотонической терапии применялись следующие виды **механической поддержки** кровообращения: обход левого желудочка центрифужным насосом Biopump (n = 5, продолжительность 5–55 суток); бивентрикулярный обход (n = 3, продолжительность 11–23 суток); ВАБК (n = 3, продолжительность 5–6 суток); имплантируемая система обхода левого желудочка (INCOR, Berlin Heart, Германия) (n = 3, максимальная продолжительность 338 суток). У 11 из этих пациентов после ТС развилось ОПП с потребностью в ЗПТ в 7 наблюдениях. Статистический анализ продемонстрировал, что применение механической поддержки кровообращения до ТС достоверно связано с развитием ОПП в раннем послеоперационном периоде (табл. 1). Это наблюдение представляется вполне объяснимым, поскольку механическая поддержка требовалась пациентам с наиболее выраженной недостаточностью кровообращения. Таким образом, анализ данных показал, что выраженность недостаточности кровообращения в предоперационном периоде в значительной степени определяет вероятность развития ОПП после пересадки сердца.

Таблица 1

Результаты статистического анализа
потенциальных факторов риска

Факторы риска	Spearman	p-level	Gamma	p-level	KendallTau	p-level
Предоперационные						
ППД	0,780427	0,000001	0,773452	0,000001	0,476590	0,000001
СН 2Б-3	0,697579	0,034202	0,720440	0,043091	0,375900	0,041879
ФК 3	0,150237	0,129839	0,31839	0,024522	0,150237	0,024522
ФК 4	0,735429	0,002780	0,694832	0,000124	0,287245	0,000001
Механическая поддержка кровообращения	0,496542	0,000245	0,7575B	0,000001	0,413611	0,000036
Интраоперационные						
Продолжительность ИК более 210 мин	0,704952	0,000237	0,774110	0,001280	0,425006	0,001925
Продолжительность ишемии т-та более 140 мин	0,700943	0,002742	0,390101	0,000049	0,435383	0,00012
Кровопотеря более 1200 мл с геотрансфузией > 750 мл	0,461120	0,000189	0,800140	0,000035	0,861120	0,000018
Гемолиз более 100 мг%	0,714532	0,00022	0,386856	0,00011	0,76543	0,00001
Послеоперационные						
Механическая поддержка кровообращения	0,819530	0,000001	0,523316	0,000001	0,742092	0,000001
Значимая недостаточность трансплантата	0,710293	0,000021	0,903983	0,000001	-0,406176	0,000933
Выраженная недостаточность трансплантата	0,573003	0,000345	0,762390	0,000001	0,689298	0,000001

Это наблюдение тем более значимо, если учесть, что при имеющемся дефиците донорских органов сроки ожидания трансплантации сердца могут быть довольно длительными. Применение методов поддержки адекватного кровообращения – медикаментозных и механических – далеко не всегда позволяет защитить почки от повреждения, а предсуществующая почечная дисфункция существенно увеличивает вероятность ОПП в послеоперационном периоде. Поэтому весьма важной представляется отработка мер нефропротекции у пациентов, ожидающих пересадку сердца.

В нашем исследовании при поступлении в Центр у 44 (28%) из 155 реципиентов выявлялись повышенные значения **плазменной концентрации креатинина**. У 10 из этих 44 пациентов азотемия носила транзиторный характер. В процессе предоперационной подготовки, подбора медикаментозной терапии и улучшения гемодинамического статуса, уровень креатинина у них снизился до нормальных значений. Наличие же стойкого повышения уровня креатинина крови (более 130 мкмоль/л) достоверно повышало вероятность развития ОПП в раннем посттрансплантационном периоде. Следует отметить, что наличие креатининемии перед операцией не оказывало влияния на частоту применения ЗПТ в послеоперационном периоде. Однако, это обстоятельство можно объяснить тем фактом, что в определенных случаях применение ЗПТ определялось «внепочечными» показаниями, например, проявлениями системного воспалительного ответа, потребностью в быстром устранении гипергидратации и другими.

Интраоперационные факторы развития ОПП

Среди предполагаемых факторов развития ОПП в посттрансплантационном периоде свое прогностическое значение продемонстрировали: продолжительность ИК более 210 минут и ишемии трансплантата более 140 минут; объем интраоперационной кровопотери более 1200 мл с необходимостью переливания эритроцитарной массы объемом свыше 750 мл; внутрисосудистый гемолиз с концентрацией свободного Hb свыше 100 мг%.

Длительность ИК рассматривается в качестве основного интраоперационного фактора риска в большинстве работ, посвященных ОПП при кардиохирургических вмешательствах. То же касается объема кровопотери и выраженного гемолиза. Данные факторы традиционны для кардиохирургических пациентов. Можно было бы предположить, что длительность ишемии трансплантата определяет частоту повреждения насосной функции сердечного трансплантата в послеоперационном периоде. Однако связи факторов «снижение сердечного индекса» и «потребность в механической поддержке кровообращения» с длительной (более 140 минут) ишемией трансплантата при статистическом анализе выявлено не было.

Вероятно, длительность ишемии трансплантата воздействует на частоту ОПП за счет выраженности системной воспалительной реакции.

Послеоперационные факторы развития ОПП

Основным фактором раннего послеоперационного периода, определяющим развитие ОПП, явилось **значимое нарушение насосной функции трансплантата**, критериями которого считали необходимость применения допамина и/или добутамина в дозе 7,5–20 мкг/кг/мин и адреналина в дозе 75–200 нг/кг/мин с целью поддержания сердечного индекса более 2,5 л/мин/м² или необходимость применения различных методов вспомогательного кровообращения. В результате анализа и статистической обработки данных было установлено, что значимое и выраженное снижение насосной функции трансплантата является достоверным фактором риска развития ОПП. Высокие дозы кардиотонической терапии (допамин/добутамин > 10 мкг/кг/мин, адреналин > 100 мкг/кг/мин), необходимые для поддержания достаточной величины СИ (>2,5 л/мин/м²), а также потребность в механической поддержке кровообращения, даже при удовлетворительных показателях гемодинамики, также являлись значимыми факторами риска развития ОПП (табл. 7).

В нашем исследовании выраженная недостаточность трансплантата, потребовавшая механической поддержки, отмечалась у 34 (21,9%) пациентов. В большинстве случаев применялась ВАБК – у 14 пациентов. Бивентрикулярный обход применялся реже, всего у 2 пациентов, его сочетание с ВАБК – у 6 пациентов. ОПЖ применялся 8 пациентам; одному пациенту потребовалось применение ОЛЖ. Из 23 пациентов, у которых недостаточность трансплантата компенсировалась перечисленными методами механической поддержки 14 получали ЗПТ. ЭКМО применялась у 3 пациентов и все они нуждались в проведении ЗПТ.

Не менее важным фактором риска была выраженная правожелудочковая недостаточность, критериями которой считали давление в правом предсердии (ДПП) > 15 мм рт. ст. и/или заклинивающее давление в легочной артерии (ЗДЛА) > 18 мм рт. ст. У 4 пациентов компенсировать ее удалось только при помощи обхода правого желудочка и у 4 обход правого желудочка комбинировался с ВАБК. Все пациенты с правожелудочковой недостаточностью параллельно с механической поддержкой получали ЗПТ.

За последние годы уменьшилось число пациентов с массивной кардиотонической поддержкой, так как разработана эффективная тактика раннего применения вспомогательного кровообращения при развитии тяжелой дисфункции сердечного трансплантата в раннем периоде после ТС. При явных гемодинамических проявлениях дисфункции сердечного трансплантата, когда предполагается длительное применение массивных доз кардиотонических препаратов, способных вызвать развитие почечной дисфункции и нарушений периферического кровообращения, более целесо-

образно использовать вспомогательное кровообращение в течение 3–5 суток. В этой связи можно предполагать, что совершенствование аппаратуры для механической поддержки насосной функции сердца и отработка оптимальных методик ее применения позволят снизить частоту ОПП, связанного с дисфункцией трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

Показания к заместительной почечной терапии

Факт наличия у пациента одного из перечисленных факторов риска развития ОПП в раннем посттрансплантационном периоде сам по себе не является показанием к применению ЗПТ. Тем не менее, наличие почечной дисфункции в предоперационном периоде и выраженное снижение насосной функции трансплантата в раннем послеоперационном периоде позволяют с высокой степенью вероятности прогнозировать развитие ОПП с потребностью в ЗПТ. Применительно к реципиентам сердечного трансплантата использование стандартных показаний к ЗПТ и общепринятых классификаций (например, классификации RIFLE) представляется не вполне оправданным.

В нашей практике у данной категории пациентов показания к ЗПТ были расширены и в ряде случаев ее начинали даже до появления каких-либо явных симптомов ОПП, но при наличии достоверных факторов риска. У 8 пациентов ЗПТ (постоянную вено-венозную гемофильтрацию) начинали интраоперационно.

Показания к применению ЗПТ у реципиентов сердечного трансплантата

- креатинин крови более 200 мкмоль/л или прирост креатинина более чем на 30% от его дооперационного значения;
- мочевины крови более 20 ммоль/л;
- диурез менее 0,5 мл/кг/ч или менее 30 мл/ч в течение 4 часов и более, несмотря на адекватный волемический и гемодинамический статус, а также резистентность к диуретической терапии (фуросемид суммарно более 200 мг за 12 ч);
- калий крови более 5,0 ммоль/л;
- необходимость применения ЗПТ с целью ультрафильтрации при проявлениях клинически значимой бивентрикулярной или преимущественно правожелудочковой дисфункции сердечного трансплантата (ДПП > 15 мм рт. ст., ЗДЛА > 18 мм рт. ст.).

С 2005 года, с учетом собственного опыта, показания к началу ЗПТ в нашем Центре были расширены, и в их перечень дополнительно включили:

- гипертермию (> 38,5 °С), устойчивую к антипиретической терапии;
- метаболические расстройства: ацидемия – pH крови < 7,35 или алкалоз с pH крови > 7,50; соответственно – ВЕа < –4,5 или > 7,5 ммоль/л, лактат крови > 8 ммоль/л;

- гипернатриемию > 155 ммоль/л;
- гипергликемию > 20 ммоль/л, резистентную к инсулинотерапии;
- стойкую гипокалиемию – $2,5$ ммоль/л и ниже;
- клинико-лабораторные проявления синдрома системного воспалительного ответа и начальные проявления синдрома полиорганной недостаточности.

Показания для применения *постоянных методов ЗПТ* в раннем послеоперационном периоде:

- значимое проявление нарушений насосной функции сердечного трансплантата, требующее применения допамин/добутамин $> 7,5$ мкг/кг/мин и/или адреналина > 75 нг/кг/мин;
- необходимость длительной коррекции волевических, метаболических, электролитных, полиорганных и иммунологических нарушений.

Следует отметить, что поскольку ОПП в большинстве случаев было связано с дисфункцией трансплантата, в том числе – правожелудочковой, подобное состояние требовало тщательного управления статусом гидратации на основании данных исследования центральной гемодинамики. В такой ситуации были предпочтительны постоянные методики ЗПТ, достаточно быстро вытеснившие традиционный гемодиализ из спектра методов ЗПТ, применявшихся в раннем послеоперационном периоде.

В то же время продленная ежедневная ГДФ online с успехом использовалась в этой популяции пациентов. Это касалось и случаев выраженной почечной дисфункции в дооперационном периоде, и лечения пациентов после трансплантации при стабилизации их состояния. □

Результатом расширения показаний к ЗПТ явилось существенное увеличение частоты ее применения. Если с 1995-го по 2005 гг. ЗПТ применялась только у 6 (12%) из 50 пациентов после ТС, то с 2006-го по 2010 гг. – у 40 (38%) из 105 реципиентов. Предпочтение отдавалось постоянным методам ЗПТ. За этот же период наблюдения отмечено значительное улучшение выживаемости реципиентов сердца (рис. 1).

Следствием расширения показаний явилось также существенно более раннее начало ЗПТ. Если с 1995 по 2005 год ЗПТ обычно начинали на 4–5-е сутки, то с 2006 года сроки ее начала сместились на 1–2-е сутки после ТС. При этом у реципиентов, которым ЗПТ начинали в ранние сроки после операции отмечалась значительно более низкая смертность (27%) в раннем послеоперационном периоде по сравнению с пациентами с отсроченным началом ЗПТ (83%).

Заместительная почечная терапия

Острое повреждение почек в раннем периоде после ТС

Острое повреждение почек в раннем периоде после ТС диагностировали у 67 (43,2%) из 155 обследованных реципиентов сердца. При этом у

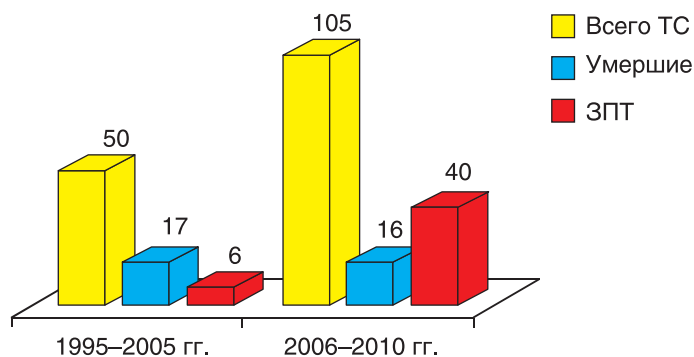


Рис. 1. Результаты ТС и применение ЗПТ в различные периоды времени

46 (68,6%) (41 мужчина и 5 женщин в возрасте 19–70, в среднем 40,1 лет) из 67 реципиентов с ОПП (или у 29,7% из 155 обследованных реципиентов сердца) потребовалось проведение различных методов ЗПТ.

В нашем исследовании основными показаниями для проведения ЗПТ в раннем посттрансплантационном периоде являлись:

- рост азотемии в сочетании с олигурией и объемной перегрузкой (n = 13; 25,5%);
- клинически значимые проявления ССВО: гипертермия > 38,5 °С, гемодинамические нарушения (постперфузионная сосудистая недостаточность) в сочетании с метаболическими и биохимическими расстройствами на фоне разной степени выраженности нарушения насосной функции сердечного трансплантата (n = 10; 19,6%);
- СПОН в сочетании с клинико-лабораторными проявлениями сепсиса или септического шока на фоне разной степени выраженности нарушения насосной функции сердечного трансплантата (n = 19; 37,3%);
- СПОН, развившийся вследствие значимого или выраженного нарушения насосной функции сердечного трансплантата (n = 36), потребовавшего пролонгированного ИК, применения высоких дозировок кардиотонических и вазоактивных препаратов и различных методов вспомогательного кровообращения и оксигенации (n = 34): внутриартериальная баллонная контрпульсация (n = 14), бивентрикулярный обход (n = 8), обход правого желудочка (n = 8), обход левого желудочка (n = 1), центральная вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация (n = 3);
- ОПП, развившееся вследствие интраоперационного гемолиза (n = 7; 13,7%);
- хроническая почечная недостаточность, требовавшая применения программного гемодиализа в предтрансплантационном периоде (n = 2; 3,9%).

Результаты применения различных методов ЗПТ после ТС

В подавляющем большинстве наблюдений (44 из 46) лечение начинали с постоянных методов ЗПТ (ПЗПТ), частота применения которых в различные годы представлена на рис. 2.

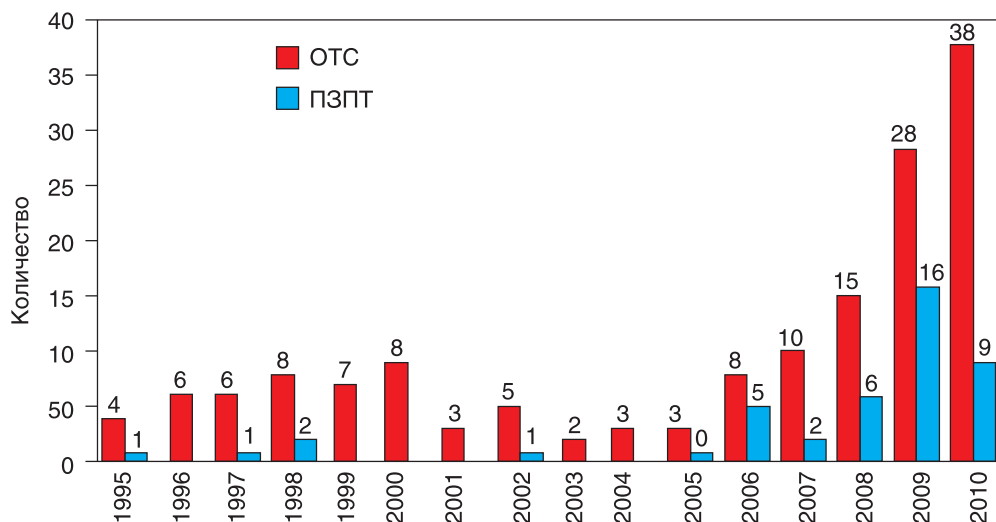


Рис. 2. Количество выполненных ТС (n = 155) и потребность в постоянных методах заместительной почечной терапии (ПЗПТ) (n = 44) за 1995–2010 гг.

ЗПТ начинали на 1–5-е, в среднем – $1,1 \pm 0,1$ сутки после операции ТС (рис. 3). 3 из 44 реципиентов в связи с неудовлетворительной коррекцией азотемии (мочевина – 24 ± 3 ммоль/л, креатинин – 212 ± 9 мкмоль/л) осуществили переход с ПВВГ на ПВВГДФ на 3–5 суток после начала ЗПТ. Потребность в ЗПТ сохранялась в течение 1–14 суток и в среднем составляла $5,5 \pm 0,5$ суток (рис. 4).

На момент начала ЗПТ были выявлены повышенные значения ДПП $14,2 \pm 1,6$ мм рт. ст., ДЛАСр. $29,8 \pm 1,5$ мм рт. ст. и ЗДЛА ($16,7 \pm 0,9$ мм рт. ст.), низкая ФИПЖ ($21 \pm 2\%$) и высокий ИКДОПЖ (168 ± 5 мл/м²), что в условиях развившегося ОПП указывало на необходимость проведения дегидратационной терапии с помощью экстракорпоральных методов для улучшения объемных характеристик и насосной функции сердечного трансплантата. Низкие значения ИОПСС (1680 ± 110 дин·с·см⁻⁵ м²) на фоне применения симпатомиметических кардиотоников с сосудосуживающим действием указывали на наличие сопутствующих расстройств системного сосудистого тонуса.

Кроме того, у большинства из данной категории больных перед началом проведения ЗПТ отмечали клинически значимые нарушения гомео-

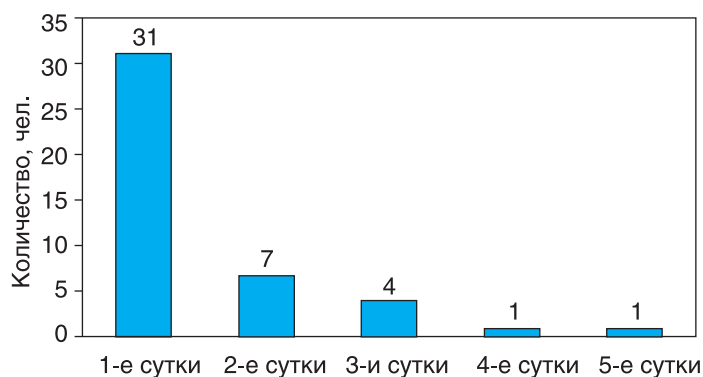


Рис. 3. Сроки начала проведения ЗПТ

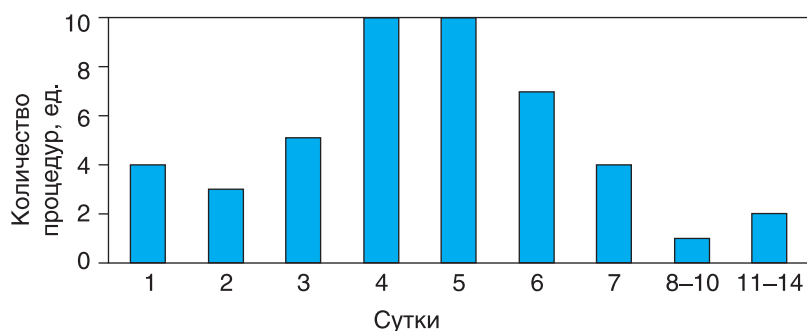


Рис. 4. Продолжительность проведения ЗПТ

стаза: метаболический ацидоз ($pH_a - 7,31 \pm 0,05$, $BE_a - 7,3 \pm 1,5$ ммоль/л), гиперлактатемию ($12,8 \pm 0,9$ ммоль/л), гипернатриемию (152 ± 2 ммоль/л), гипергликемию ($16,3 \pm 0,9$ ммоль/л).

Продолжительность постоянных процедур составила в среднем 26 ± 3 часа, интервал между процедурами обычно не превышал одного часа, который требовался для замены экстракорпорального контура. Продолжительность ГД составила $4,3 \pm 0,2$ часа. Среднесуточный объем ультрафильтрации при проведении процедур ПЗПТ у пациентов с благоприятным исходом составлял 1799 ± 127 мл/сутки. Чаще всего использовали постдилюционное замещение (98% наблюдений) и только в 2% случаях при наличии выраженной гипокоагулопатии – преддилюционное замещение.

Через 3 ч после начала ЗПТ отмечалось существенное улучшение ($p < 0,05$) показателей КОС (увеличение pH_a и BE_a), снижение уровня гиперлактатемии и гипергликемии, а через 6 ч – снижение уровня натриемии с 152 ± 2 до 143 ± 2 ммоль/л. Положительная динамика изменений КОС, электролитного состава крови и принципиальных показателей ме-

таболизма у пациентов с благоприятным исходом сохранялась на протяжении всего периода применения ЗПТ.

На фоне проводимой экстракорпоральной дегидратации через 3 ч после начала ЗПТ значимо ($p < 0,05$) снижались показатели наполнения правых (ДПП – на 19%) и левых (ЗДЛА – на 20%) отделов сердечного трансплантата, а также ДЛАСр. (на 19%). Наметились отчетливая тенденция к увеличению СИ и ИУО, что создало предпосылки для постепенного снижения напряженности кардиотонической и вазоактивной терапии. Дозировки адреналина и допамина у данной категории больных достоверно снижались через 2 суток после начала применения ЗПТ.

Уменьшение ИКДОПЖ на 15% ($p < 0,05$) наступало через 6 ч после начала терапии. Статически значимое увеличение ФИПЖ отмечалось только к концу 2 суток проведения ЗПТ.

На фоне проводимой ЗПТ также было выявлено постепенное улучшение системного сосудистого тонуса, проявившееся увеличением ($p < 0,05$) ИОПСС с 1445 ± 86 до 1797 ± 102 $\text{дин} \cdot \text{с} \cdot \text{см}^{-5} \text{ м}^2$ через 12 часов после начала процедуры, что также способствовало последующему уменьшению дозировок симпатомиметических препаратов, обладающих вазоконстрикторным действием. Потребность в применении фенилэфрина имела у 7 (23,3%) из 31 пациентов, при этом продолжительность введения препарата не превышала 2 суток после начала ЗПТ. К концу проведения ЗПТ уровень ИОПСС составил 1978 ± 119 $\text{дин} \cdot \text{с} \cdot \text{см}^{-5} \text{ м}^2$ на 5-е сутки и 1998 ± 105 $\text{дин} \cdot \text{с} \cdot \text{см}^{-5} \text{ м}^2$ на 6-е сутки.

Через 6 ч после начала терапии $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ увеличился на 24% ($p < 0,05$) при одновременном повышении SaO_2 с $97,6 \pm 0,3$ до $98,8 \pm 0,2\%$ ($p < 0,05$). Улучшение оксигенирующей функции наступило на фоне стойкого уменьшения Qs/Qt , которое было выявлено через 12 ч после начала проведения ЗПТ ($18,7 \pm 1,1$ и $15,2 \pm 0,9$, $p < 0,05$). В конце 3-х суток ЗПТ и на последующих этапах наблюдения уровень $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ оставался выше 300 мм рт. ст. С помощью транспульмональной термодилуции, выполненной у 6 пациентов, содержание внесосудистой воды легких и проницаемость легочных сосудов достоверно уменьшились соответственно к концу 1-х и 2-х суток проведения ЗПТ.

На момент начала ЗПТ концентрация мочевины в крови пациентов составила 14 ± 2 ммоль/л, креатинина – 157 ± 9 мкмоль/л. На фоне проведения ЗПТ удалось избежать прогрессирования азотемии, однако была отмечена тенденция к более высоким значениям мочевины и креатинина на 3–5-е сутки после ТС с дальнейшим постепенным снижением этих показателей. После прекращения постоянной ЗПТ у большинства больных (7-е сутки после ТС) уровень мочевины и креатинина продолжал снижаться, что указывало на адекватность принятого решения о прекращении ЗПТ на фоне разрешения ОПП. К концу 2-й недели после ТС средние концентрации мочевины и креатинина в крови пациентов составляли 8 ± 2 ммоль/л и 110 ± 8 мкмоль/л соответственно.

У реципиентов с благоприятным исходом с 4–5 суток после начала ЗПТ отмечался стойкий регресс проявлений СПОН, на что указывало уменьшение балла по шкале SOFA с $11,3 \pm 1,1$ (1 сутки после ТС) до $7,7 \pm 0,7$ (5-е сутки после ТС) ($p < 0,05$). Это предопределило дальнейшее благоприятное течение посттрансплантационного периода.

При стабилизации гемодинамических показателей и сохраняющейся потребности в ЗПТ ряду пациентов проводили гемодиализацию с приготовлением субституата из диализирующего раствора в ходе процедуры (ГДФ-online), продленную до 6–10 часов. Гемодинамическими критериями для возможного перехода с постоянных на интермиттирующие методы ЗПТ считали: АДср. > 75 мм рт. ст.; СИ $> 2,7$ л/мин/м²; потребность в введении допамина и/или добутамина $\leq 7,5$ мкг/кг/мин. Сеансы ГДФ-online начинали на 3–5-е сутки после операции.

У 13 пациентов помимо ЗПТ проводились сеансы плазмафереза и у 3 пациентов сеансы МАРС-терапии и ЛПС-абсорбции.

Заместительная почечная терапия и выживаемость пациентов после трансплантации сердца

Результатом расширения показаний к началу ЗПТ явилось существенное увеличение частоты ее применения в раннем периоде после ТС. Если с 1995-го по 2005 г. ЗПТ применялась только у 6 из 50 пациентов после ТС, то с 2006-го по 2010 г. – у 40 пациентов из 105, прежде всего – в виде постоянных методов. При этом было отмечено достоверное улучшение выживаемости пациентов в период выполнения программы ТС в 2006–2010 гг. (рис. 5).

Тем не менее, летальность пациентов с ОПП оставалась высокой и составляла 20,9% в сравнении с 6,1% в группе реципиентов без ОПП. Наиболее высокий показатель летальности отмечался у пациентов с ОПП, нуждавшихся в ЗПТ – 25,6%.

В ряде случаев ЗПТ начинали по экстраренальным показаниям. Очевидно, такие пациенты отличались наиболее тяжелым течением послеоперационного периода. Летальность у пациентов, нуждавшихся в ЗПТ, вне зависимости от наличия ОПП, достигала 34,7% в сравнении с 12,9% у пациентов, которым ЗПТ не проводилась.

Развитие ОПП в раннем посттрансплантационном периоде само по себе является существенным фактором, ухудшающим прогноз у реципиентов донорского сердца. Выживаемость пациентов в течение месяца после ТС при наличии ОПП существенно снижалась.

Развитие ОПП в раннем послеоперационном периоде влияло не только на непосредственные результаты трансплантации, но и достоверно ухудшало выживаемость реципиентов в долгосрочной перспективе ($p < 0,01$, рис. 6).

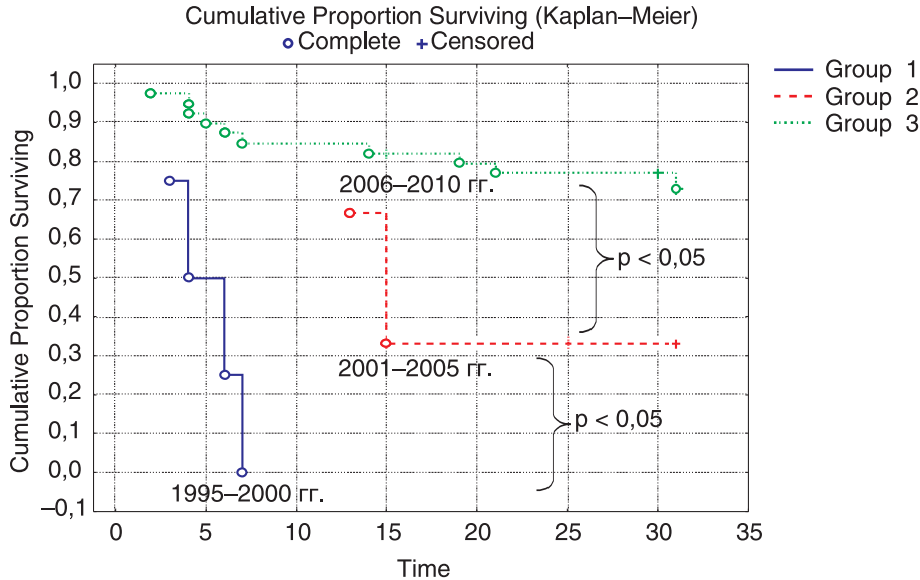


Рис. 5. Выживаемость пациентов с ЗПТ в раннем периоде после ТС в различные периоды времени

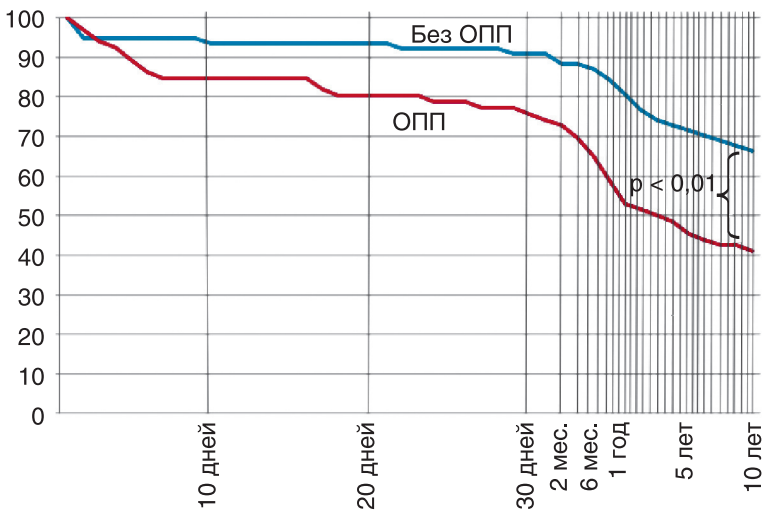


Рис. 6. Кумулятивная выживаемость реципиентов сердечного трансплантата в зависимости от наличия ОПП в раннем послеоперационном периоде

Тем не менее отмечалось достоверное улучшение выживаемости в обеих группах реципиентов (с ОПП и без нее) после 2005 года. Одновременно сократилась средняя продолжительность пребывания пациентов в

стационаре (с $57,1 \pm 9,4$ до $33,2 \pm 10,1$ суток). У 28 из 30 выживших пациентов, получавших ЗПТ, почечная функция восстановилась до выписки из стационара, 2 больных были переведены на программный гемодиализ.

ВЫВОДЫ

1. Острое повреждение почек является частым осложнением раннего послеоперационного периода трансплантации сердца, развивается у 43,2% реципиентов.
2. Предоперационными факторами риска развития острого повреждения почек в раннем послеоперационном периоде трансплантации сердца являются: предрасполагающая почечная дисфункция со стойким уровнем креатинина крови более 130 мкмоль/л; недостаточность кровообращения, соответствующая IIБ–III стадии по классификации Стражеско-Василенко и IV функциональному классу по классификации NYHA; потребность в механической поддержке кровообращения.
3. Периоперационными факторами риска развития острого повреждения почек в раннем послеоперационном периоде трансплантации сердца являются: длительность ишемии трансплантата более 210 мин; длительность искусственного кровообращения более 140 мин; кровопотеря более 1200 мл; объем перелитой эритроцитарной массы более 750 мл; внутрисосудистый гемолиз с уровнем свободного гемоглобина более 100 мг%; выраженная дисфункция сердечного трансплантата, требующая длительной и напряженной симпатомиметической терапии (допамин и/или добутамин более 10 мкг/кг/мин и адреналин более 100 нг/кг/мин и/или механической поддержки кровообращения).
4. Большинство пациентов с острым повреждением почек в раннем послеоперационном периоде трансплантации сердца нуждаются в заместительной терапии; основными показаниями являются отклонения гомеогидробаланса, электролитные и метаболические расстройства, а также клинко-лабораторные проявления синдрома системного воспалительного ответа.
5. Постоянные методы заместительной почечной терапии предпочтительны, особенно при наличии значимого нарушения насосной функции сердечного трансплантата и необходимости тщательного контроля гомеогидробаланса.
6. Развитие острого повреждения почек в раннем периоде после трансплантации сердца оказывает негативное влияние на выживаемость реципиентов не только в ранние, но и в отдаленные сроки после операции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При определении показаний к заместительной почечной терапии реципиентам в раннем периоде после трансплантации сердца следует учитывать выявленные периоперационные факторы риска развития острого повреждения почек.
2. Клинико-лабораторными показателями для проведения заместительной почечной терапии в раннем периоде после трансплантации сердца следует считать:
 - креатинин крови более 200 мкмоль/л или прирост креатинина более чем на 30% от его дооперационного значения;
 - мочевины крови более 20 ммоль/л
 - диурез менее 0,5 мл/кг/ч или менее 30 мл/ч в течение 4 часов и более, несмотря на адекватный волемический и гемодинамический статус, а также резистентность к диуретической терапии (фуросемид суммарно более 200 мг за 12 ч);
 - калий крови более 5,0 ммоль/л;
 - необходимость применения ЗПТ с целью ультрафильтрации при проявлениях клинически значимой бивентрикулярной или преимущественно правожелудочковой дисфункции сердечного трансплантата (ДПП > 15 мм рт. ст., ЗДЛА > 18 мм рт. ст.).
 - гипертермию ($> 38,5$ °C), устойчивую к антипиретической терапии;
 - метаболические расстройства: ацидемия – pH крови $< 7,35$ или алкалоз с pH крови $> 7,50$; соответственно – ВЕа $< -4,5$ или $> 7,5$ ммоль/л, лактат крови > 8 ммоль/л;
 - гипернатриемию > 155 ммоль/л;
 - гипергликемию > 20 ммоль/л, резистентная к инсулинотерапии;
 - стойкую гипокалиемию – 2,5 ммоль/л и ниже;
 - клинико-лабораторные проявления синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) и начальные проявления синдрома полиорганной недостаточности.
3. При выборе оптимального метода заместительной почечной терапии, учитывая необходимость непрерывного контроля и управления гемогидробалансом в условиях стойкого нарушения или постепенного восстановления насосной функции сердечного трансплантата, предпочтение следует отдавать постоянным методам (постоянной вено-венозной гемофильтрации или постоянной вено-венозной гемодиализации). Показаниями для предпочтительного применения постоянных методов заместительной почечной терапии в раннем периоде после трансплантации сердца следует считать: значимое проявление нарушений насосной функции сердечного трансплантата, требующее применения допамин/добутамин $> 7,5$ мкг/кг/мин и/или адреналина > 75 нг/кг/мин, необходимость длительной коррекции волемических,

метаболических, электролитных, полиорганных и иммунологических нарушений.

4. При выборе объемной скорости ультрафильтрации при проведении заместительной почечной терапии у реципиентов сердца следует ориентироваться на показатели центральной гемодинамики и насосной функции сердечного трансплантата: давление правого предсердия, заклинивающее давление легочной артерии, сердечный индекс, фракция выброса правого желудочка, конечно-диастолический объем правого желудочка.
5. По мере улучшения насосной функции сердечного трансплантата создаются благоприятные условия для перехода от постоянных методов заместительной почечной терапии к продленным и интермиттирующим.
6. Из существующих интермиттирующих и продленных процедур для реципиентов сердечного трансплантата предпочтительнее ГДФ-online.
7. При затяжном течении ОПП и потребности в ЗПТ более 10 дней рекомендуется формирование постоянного доступа в виде тунелированного катетера, для профилактики инфекционных осложнений.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Шумаков В.И., Строков А.Г., Попцов В.Н., Поз Я.Л., Копылова Ю.В.* Эффективность различных методов заместительной почечной терапии у больных после операций с искусственным кровообращением // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева. – 2007. – Т. 8 (6). – С. 226.
2. *Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Воронина О.В., Попцов В.Н., Строков А.Г.* Острая почечная недостаточность в раннем послеоперационном периоде при трансплантации сердца // Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов. – М., 2007. – С. 179.
3. *Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г., Морозюк Е.В., Лотышев А.А., Копылова Ю.В.* Основные направления интенсивной терапии в раннем периоде после ортотопической трансплантации сердца // Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов. – М., 2007. – С. 25.
4. *Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Попцов В.Н., Строков А.Г., Воронина О.В., Ухренков С.Г.* Факторы риска развития острого повреждения почек в раннем периоде после трансплантации сердца // Бюллетень НЦССХ им. Бакулева РАМН. Материалы XV Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. – М., 2009. – Т. 10 (6). – С. 251.
5. *Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г.* Острое повреждение почек: исторические аспекты и критерии диагностики // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12 (1). – С. 94–99.
6. *Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г.* Острое повреждение почек при кардиохирургических операци-

- ях с искусственным кровообращением и трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12 (1). – С. 100–110.
7. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г.** Профилактика и лечение острого повреждения почек при кардиохирургических операциях с искусственным кровообращением и трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12 (2). – С. 92–99.
 8. **Попцов В.Н., Софронов Я.К., Ухренков С.Г., Морозюк Е.В., Лотышев А.А., Мошков А.С., Копылова Ю.В., Еремеева О.А.** Постоянная заместительная почечная терапия как метод интенсификации предоперационной подготовки кардиохирургических больных // Материалы 7-й международной конференции «Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии». М., 27–28 мая 2010. С. 38.
 9. **Попцов В.Н., Ухренков С.Г., Морозюк Е.В., Лотышев А.А., Мошков А.С., Софронов Я.К., Копылова Ю.В., Еремеева О.А.** Постоянные методы заместительной почечной терапии у кардиохирургических больных, оперированных с искусственным кровообращением // Материалы 7-й международной конференции «Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии». М., 27–28 мая 2010. С. 39.
 10. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г.** Заместительная почечная терапия при трансплантации сердца // Материалы 7-й международной конференции «Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии». М., 27–28 мая 2010. С. 24.
 11. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н.** Заместительная почечная терапия в раннем послеоперационном периоде при трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12 Приложение. – Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. – М., 8–10 октября 2010. С. 231–232.
 12. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Ухренков С.Г., Спирина Е.А., Попцов В.Н., Строков А.Г.** Острое повреждение почек при трансплантации сердца: факторы риска и показания к заместительной почечной терапии // Нефрология и диализ. – 2011. – Т. 13 (4). – С. 419–425.
 13. **Попцов В.Н., Спирина Е.А., Воронина О.В., Ухренков С.Г., Потапенко И.Д., Копылова Ю.В., Воронина И.В., Виноградова О.Ю.** Анестезиологическое пособие и интенсивная терапия при ретрансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. 12 (4). – С. 19–24.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АВСК	–	активированное время свертываемости крови;
АДср.	–	среднее артериальное давление;
АПФ	–	ангиотензин-превращающий фермент;
БАБК	–	внутриаортальная баллонная контрпульсация;
ГД	–	гемодиализ

ГДФ on line	– гемодиализация с одновременным приготовлением субституата в ходе процедуры;
ДЛАСр.	– среднее давление в легочной артерии;
ДПП	– давление в правом предсердии;
ЗДЛА	– заклинивающее давление легочной артерии;
ЗПТ	– заместительная почечная терапия;
ИК	– искусственное кровообращение;
ИУО	– индексируемый ударный объем;
ИКДОПЖ	– индекс конечно-диастолического объема правого желудочка;
ИКСОЛЖ	– индекс конечно-систолического объема правого желудочка;
ИОПСС	– индекс периферического сосудистого сопротивления;
КОС	– кислотно-основное состояние;
ЛЖ	– левый желудочек;
НК	– недостаточность кровообращения;
ОЛЖ	– обход левого желудочка;
ОПЖ	– обход правого желудочка;
ОПП	– острое повреждение почек;
ПВВГ	– постоянная вено-венозная гемофильтрация;
ПВВГДФ	– постоянная вено-венозная гемодиализация;
ПЖ	– правый желудочек;
ПЗПТ	– постоянная заместительная почечная терапия;
ППД	– предсуществующая почечная дисфункция
СИ	– сердечный индекс;
СН	– сердечная недостаточность;
СПОН	– синдром полиорганной недостаточности;
ССВО	– синдром системного воспалительного ответа;
ТС	– трансплантация сердца;
ФИПЖ	– фракция изгнания правого желудочка;
ЭКМО	– экстракорпоральная мембранная оксигенация;
ЭХОКГ	– эхокардиография;
ВЕа	– основания артериальной крови;
pHа	– pH артериальной крови;
PvO ₂	– парциальное напряжение O ₂ в смешанной венозной крови;
RIFLE	– шкала оценки ОПП: Risk (риск), Injury (повреждение), Failure (недостаточность) и двум исходам – Loss (потеря функции) и End Stage Kidney Disease (терминальная почечная недостаточность).
SOFA	– The Sequential Organ Failure Assessment Score – шкала последовательной оценки органной недостаточности;
SaO ₂	– насыщение O ₂ артериальной крови;
UNOS	– United Network of Organ Sharing – Объединенная сеть по распределению органов.
PaO ₂ /FiO ₂	– индекс оксигенации

Людуп Алексей Валерьевич

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА
ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ФИБРОЗИРУЮЩЕГО
ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ
(экспериментальное исследование)**

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

14.03.03 – патологическая физиология

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2012

Работа выполнена в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук

Онищенко Нина Андреевна
Трубицына Ирина Евгеньевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Проблема лечения хронической печеночной недостаточности до настоящего времени остается нерешенной проблемой [Voigt, 2005; Williams, 2006; Friedman, 2010], т. к. летальность при далеко зашедших диффузных поражениях печени с исходом в тяжелую печеночную и гепатоцеребральную недостаточность не снижается и колеблется в пределах от 50 до 70–90% [Шумаков В.И., Онищенко Н.А., 1994; Damen, 1995, Рахманова А.Г., 2006, Friedman, 2008; Lee, 2010].

Установлено, что развитие хронического повреждения печени является результатом снижения регенерационного потенциала гепатоцитов и уменьшения их массы, а также результатом избыточного образования компонентов внеклеточного матрикса.

Единственно эффективным методом лечения таких больных признана трансплантация печени [Williams, 2006; Lee, 2008; Готье С.В., Мойсюк Я.Г., 2010; Frei, 2011], которая, однако, не может быть осуществлена всем нуждающимся из-за дефицита донорских органов, который имеет место во всем мире [Чжао А.В., 2002; Perkins, 2007; Berg, 2007; Kim, 2008; Alison, 2009].

Традиционно считается, что повреждения при циррозе печени необратимы. Тем не менее, исследования последних лет, выполненные на животных и в клинике, указывают на возможность, хотя бы частичного, регресса уже сформировавшегося фиброза [Arthur, 2002; Issa et al., 2004; Friedman, 2007; Zhang, 2011] с помощью клеточных технологий – трансплантации изолированных гепатоцитов и стволовых (прогениторных) клеток из разных источников [Dhawan, 2006; Kallis, 2007; Enns, 2008; Lysy, 2008; Oertel, 2008; Alison, 2009; Almeida-Porada, 2010; Stutchfield, 2010], в том числе из костного мозга (КМ) – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) [Quintanilha, 2008; Alison, 2009; Almeida-Porada, 2010]. В условиях эксперимента и клиники установлен факт антифиброзного действия стволовых/прогениторных клеток костного мозга [Fang et al., 2004; Di Vinicius, 2005; Zhao et al., 2005; Aziz et al., 2007; Dai et al., 2009]. Однако не все исследователи признают фибролитический эффект стволовых клеток и указывают даже на возможность усиления фиброза при их использовании [Russo et al., 2006; Di Bonzo et al., 2008; Higashiyama et al., 2007].

Констатация диаметрально противоположных результатов может быть следствием недоучета роли типа используемых клеток и их биорегуляторной активности (гемопоэтические или стромальные клетки), а также степени тяжести и обратимости имеющихся повреждений в печени.

Для установления причин противоречивых результатов применения, в частности ММСК КМ, а также для выработки показаний к их применению для лечения хронической недостаточности необходимо иметь четкие представления: об особенностях динамики развития соединительной ткани в печени под влиянием трансплантированных клеток. Для этого необходимо использовать адекватную модель фиброзирующего повреждения печени без и на фоне применения клеток костного мозга, определить эффективные дозы и сроки для их применения с учетом степени выраженности предсуществующих процессов фиброзирования печени. Такие данные в литературе отсутствуют, и это позволило нам сформулировать цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить динамику развития соединительной ткани в печени при моделировании токсического фиброзирующего повреждения печени и транс-

плантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток аллогенного костного мозга.

Задачи исследования

1. Оптимизировать способ моделирования устойчивого фиброзирующего повреждения печени у крыс для оценки терапевтических эффектов клеточной трансплантации.
2. Оценить динамику морфологических изменений в печени при ее токсическом фиброзирующем повреждении.
3. Установить способность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток обеспечивать коррекцию процессов фиброзирования в печени.
4. Изучить эффект трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на морфологические и функциональные нарушения печени при токсическом фиброзирующем повреждении в зависимости от дозы (однократная и двукратная трансплантация клеток).
5. Установить эффективные сроки выполнения трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток для коррекции морфологических и функциональных нарушений в печени при хроническом фиброзирующем повреждении.
6. Установить связь коррекции морфологических нарушений в печени при трансплантации мезенхимальных стромальных клеток со снижением активации звездчатых клеток – регуляторов фиброгенеза и ускорением процессов пролиферации паренхиматозных клеток.

Научная новизна

Разработана схема введения CCl_4 для моделирования устойчивого фиброзирующего повреждения печени, которая исключает возможность спонтанной реверсии возникших морфо-функциональных нарушений.

Изучена динамика процесса фиброзирования печени после введения CCl_4 . Впервые установлено, что процесс фиброзирования имеет фазный характер и приобретает прогрессирующее течение в отдаленные сроки – 60 и 90 сутки после курсового применения CCl_4 . Исследование экспрессии маркеров активации звездчатых клеток печени – десмина и α -ГМА, позволило подтвердить, что процесс фиброзирования печени осуществляется при участии активированных звездчатых клеток. С помощью маркеров клеточной пролиферации и апоптоза (АФП, PCNA, Bcl2, каспазы-3 и каспазы-9) было подтверждено, что развитие соединительной ткани в печени происходит на фоне замедления восстановительной регенерации гепатоцитов.

Установлено, что аллогенные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга (ММСК КМ) от здорового донора при

трансплантации животным с хроническим фиброзирующим повреждением печени способны перепрограммировать процессы регенерации поврежденной печени и предотвращать формирование соединительной ткани в печени, если ММСК КМ используются в достаточной дозе и на ранних сроках развития процессов фиброзирования.

Впервые установлено, что применение ММСК в терапевтически эффективной дозе (двукратная трансплантация) и на ранних сроках развития фиброзирующего повреждения печени характеризуется двухфазной динамикой воздействия на развитие соединительной ткани: первоначально происходит достоверное увеличение удельной площади соединительной ткани (более выраженное, чем в контроле), а затем в отдаленные сроки наступает уменьшение площади и общего объема соединительной ткани (резорбции соединительной ткани печени; однократная трансплантация ($\frac{1}{2}$ эффективной дозы на 3-и сутки после затравки) была малоэффективна. Динамика корригирующего эффекта ММСК при воздействии эффективной дозы клеток коррелирует с убылью содержания активированных звездчатых клеток (по экспрессии десмина и α -ГМА), и с более ранней активацией пролиферации гепатоцитов (по экспрессии альфа-фетопroteина). Отсроченная трансплантация ММСК в терапевтически эффективной дозе (на 30-е и 37-е сутки после затравки) на фоне разрастания соединительной ткани неэффективна, т. к. не предотвращает разрастание соединительной ткани. Сформулирована гипотеза, согласно которой для реализации терапевтического эффекта ММСК и перепрограммирования регенерационного процесса в ткани печени с фиброзирующего на восстановительный должны быть сохранены адаптационные резервы восстановительной регенерации, которые еще сохранены на ранних сроках после повреждения печени и которые отсутствуют на поздних сроках регенерационного процесса.

Практическая значимость работы

Предложена новая схема введения CCl_4 для моделирования устойчивого фиброзирующего повреждения печени и проведения доклинических испытаний безопасности и терапевтических возможностей клеточных биотехнологий. Установлено, что применение ММСК КМ должно проводиться в терапевтически эффективных дозах на начальных этапах развития соединительной ткани в печени, когда еще сохранены местные адаптационные механизмы для перепрограммирования процессов фиброгенеза (фиброзирующей регенерации). Предотвращение развития соединительной ткани находится в непосредственной и прямой зависимости от суммарной дозы ММСК и достигается за счет раннего применения ММСК в эффективной дозе. Введение ММСК снижает функциональную активность синусоидных клеток (звездчатых клеток) и повышает пролиферативную активность гепатоцитов, что восстанавливает нару-

шенное межклеточное взаимодействие паренхиматозных и непаренхиматозных клеток и способствует резорбции соединительной ткани.

Полученные результаты могут стать основой для применения аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в клинической практике у больных с хронической печеночной недостаточностью.

Положения, выносимые на защиту

1. Новая схема введения CCl_4 для создания модели устойчивого фиброзирующего повреждения печени у крыс эффективна и может использоваться для оценки доклинических результатов коррекции фиброзирующих процессов с помощью ММСК КМ.
2. Выраженность корригирующего антифиброзирующего эффекта аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга здоровых доноров находится в прямой зависимости от дозы (кратности введения клеток) и степени тяжести фиброзирующих изменений в печени (срока введения).
3. ММСК КМ, примененные в достаточной терапевтической дозе (двукратная трансплантация) на раннем этапе фиброзирования способствуют перепрограммированию процессов регенерации, что находит отражение в резорбции соединительной ткани (фибролиз).
4. ММСК КМ, примененные в той же терапевтической дозе, но на этапе развернутого фиброзирования печени (отдаленные сроки), не способствуют редукции соединительной ткани в печени.

Апробация диссертации

Апробация диссертации состоялась 23 июня 2011 г. на заседании объединенной межлабораторной научной конференции ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ.

Материалы и основные положения работы доложены и обсуждены:

на IV Всероссийском съезде трансплантологов (г. Москва, 9–10 ноября 2008 г.); Конференции «Клеточные технологии и регенеративная медицина в хирургии и трансплантологии» (г. Москва, 2009 г.); на Всероссийской конференции «Клеточные исследования и технологии в современной биомедицине» (г. Тула, 9–10 ноября 2009 г.); на II Международной конференции «Мезенхимальные стволовые клетки в органной трансплантации» (г. Роттердам, Нидерланды, 17–18 января 2010 г.); на 45-м Конгрессе Европейского общества хирургических исследований (г. Женева, Швейцария, 9–12 июня 2010 г.); на VI Европейской гастроэнтерологической конференции (г. Прага, Чехия, 24–26 июня 2010 г.); на V Всероссийском съезде трансплантологов (г. Москва, 8–10 октября 2010 г.); на IV Конгрессе регенеративной биологии и медицины (г. Штутгарт, Германия, 13–15 октября 2010 г.); на XVIII Объединенной европейской гастроэнте-

рологической неделе (г. Барселона, Испания, 23–27 октября 2010 г.); на XIII Международной конференции азиатской тихоокеанской ассоциации хирургических банков ткани (г. Букиттингги, Индонезия, 26–30 октября 2010 г.); на XVIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, 11–15 апреля 2011 г.); на III Международной конференции «Мезенхимальные стволовые клетки в органной трансплантации» (г. Лювен, Бельгия, 17–18 апреля 2011 г.); на XXXVIII Конгрессе Европейского общества искусственных органов (г. Порту, Португалия, 9–12 октября 2011 г.); на Всероссийской научной конференции «Регенеративная биология и медицина» (г. Москва, 14–15 октября 2011 г.); на XXV Ежегодной конференции австрийского общества трансплантологии, трансфузиологии и генетики (г. Грац, Австрия, 19–22 октября 2011 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 4 в центральных рецензируемых журналах и 9 в зарубежных изданиях.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 146 страницах печатного текста. Состоит из введения, 5 глав, выводов, списка цитированной литературы. Работа иллюстрирована 70 рисунками и 5 таблицами.

Содержание работы

Для решения поставленных задач была создана модель устойчивого фиброзирующего повреждения печени, отработан протокол получения клеточного препарата ММСК из КМ и изучена эффективность коррекции функциональных и морфологических проявлений фиброзирующего повреждения печени с помощью аллогенных ММСК, выделенных из костного мозга здоровых доноров.

Общая характеристика работы

Исследование проведено на 255 белых крысах-самцах породы Вистар весом 230–250 г, содержащихся в виварии ФГБУ «ФНЦ ТИИО им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава на смешанном рационе питания со свободным доступом к воде, при температуре 18–20 °С. При планировании экспериментов на животных мы руководствовались этическими принципами гуманного использования животных в экспериментах. Работа состоит из трех разделов (рис. 1).

В I разделе работы отрабатывалась новая схема введения CCl_4 для создания модели устойчивого токсического фиброзирующего повреждения печени (ТФП). Проведены биохимические и морфологические исследо-

вания, подтверждающие создание такой модели (табл. 1). Во II разделе работы отрабатывалась технология получения первичных культур ММСК КМ здоровых доноров, оптимизировались сроки культивирования выделенных клеток и количество пассирований для получения достаточной дозы клеточного препарата; применялись гистохимические методы, подтверждающие присутствие ММСК в культуре; проводилось сравнение пролиферативной активности культур клеток ММСК КМ, полученных от крыс с моделью хронического фиброзирующего повреждения печени и от интактных крыс. В III разделе работы, в 5 сериях опытов, были изучены терапевтические эффекты трансплантации ММСК КМ интактных доноров при моделировании ТФП у крыс.

Введение ММСК КМ во всех сериях опытов осуществляли внутривенно (в хвостовую вену) сразу после окончания их культивирования при достижении необходимой дозы клеточного препарата.

В первой серии опытов моделировали ТФП без введения ММСК КМ. Вместо ММСК производилось одно- или двукратное введение физиологического раствора в равных объемах с опытными сериями (1 или 2 мл).

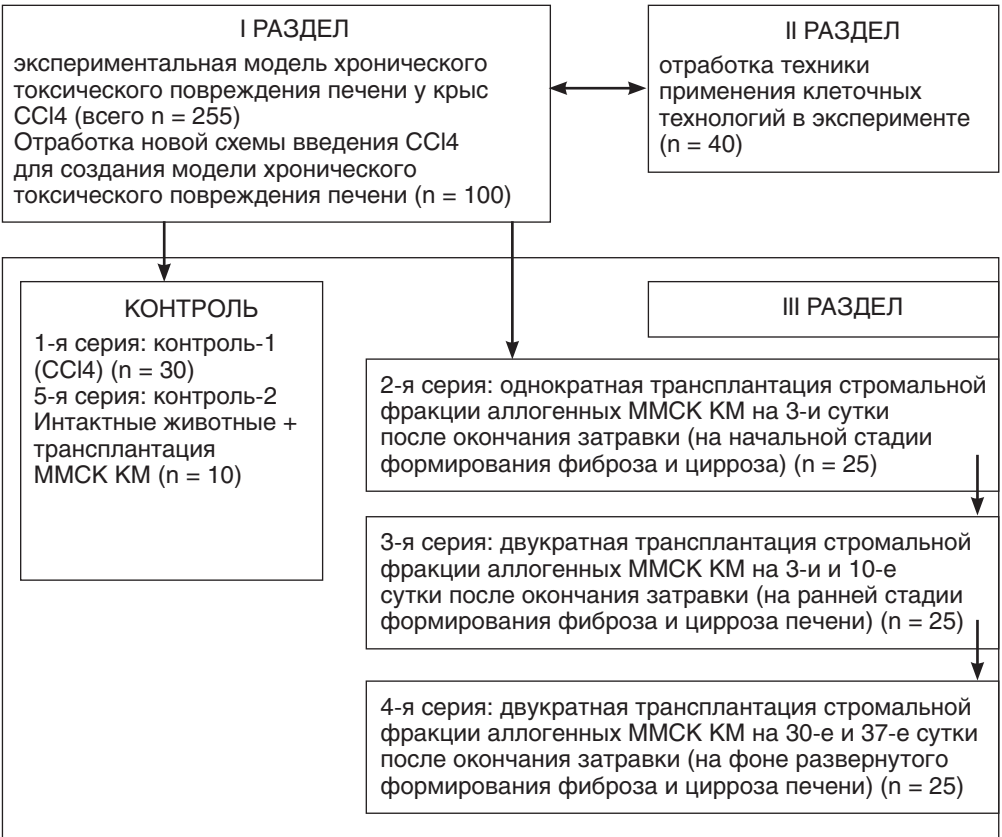


Рис. 1. Распределение животных по разделам проведенной работы

Во второй серии опытов создавалась модель ТФП и вводился клеточный препарат однократно в дозе $2,5 \times 10^6$ клеток на 3-и сутки после окончания затравки.

В третьей серии опытов создавалась модель ТФП и вводился клеточный препарат двукратно: в дозе $2,5 \times 10^6$ клеток на 3-и сутки после окончания затравки и в дозе $2,5 \times 10^6$ клеток на 10-е сутки после окончания затравки.

В четвертой серии опытов аллогенные ММСК КМ также вводили дважды крысам с моделью ТФП, но по измененной схеме: первое введение в дозе $2,5 \times 10^6$ клеток на 30-е сутки после окончания затравки, а второе введение в той же дозе проводили на 37-е сутки после окончания затравки, т. е. на фоне формирующегося фиброза печени.

В пятой серии опытов интактные животные без ТФП получали ММСК КМ в вышеуказанных дозах ($2,5 \times 10^6$ и 5×10^6 клеток).

Длительность наблюдения за экспериментальными животными всех серий опытов III раздела работы достигала 90 суток после окончания затравки. В первой контрольной серии с ТФП без клеточной терапии погибло 6 крыс. В остальных опытных сериях и в пятой контрольной серии все животные были живы в течение всего срока наблюдения.

Техника проведения экспериментов и методы исследования

Моделирование токсического фиброзирующего повреждения печени выполняли у крыс путем длительной затравки четыреххлористым углеродом (CCl_4) по оптимизированной схеме. Манипуляции проводили под кратковременным эфирным наркозом в интервале между 9 и 12 часами дня, что исключало суточные колебания митотической активности клеток печени. Подкожные инъекции 60% раствора CCl_4 на персиковом масле проводили 2 раза в неделю (понедельник, четверг) в течение 6 недель (42 суток) в дозе 0,3 мл раствора на 100 г веса животного. Первая инъекция проводилась в дозе 0,5 мл 60% раствора CCl_4 на 100 г веса животного. Суммарная курсовая доза чистого CCl_4 составляла 3,5 мл на 100 г веса животного. С помощью описанного метода была создана модель устойчивого фиброзирования печени без спонтанной реверсии вызванных изменений в течение 5 месяцев исследования.

Технология выполнения культуральных исследований (получение и культивирование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга)

Мононуклеарную фракцию клеток получали из аспирата костного мозга (КМ) животных. Для этого под эфирным наркозом из костномозгового канала большеберцовых и бедренных костей получали клетки кост-

ного мозга путем аспирации шприцем с иглой 18G, содержащим среду для забора (0,5 мл фосфатно-буферного раствора с 50 ЕД/мл гепарина и 0,25 мг/л гентамицина). Суспензию клеток КМ центрифугировали при 1500 об/мин (350g) 5 минут, осадок клеток ресуспендировали в растворе для лизиса эритроцитов (114 mM NH_4Cl , 7,5 mM KHCO_3 , 100 мкМ EDTA) в течение 3 мин и повторно центрифугировали. Гемолизированный супернатант удаляли отсасыванием, а клеточный осадок ресуспендировали в среде DMEM (ПанЭко, Россия), содержащей 10% телячьей эмбриональной сыворотки («HyClone gold», USA), инсулин 0,4 мкМ и 0,25 мг/л гентамицина. Выделенные клетки, представляли собой первичную культуру, преимущественно моноклеарных клеток КМ, которые затем высевали в культуральные флаконы и помещали в CO_2 -инкубатор с 5% концентрацией CO_2 и 95% содержанием атмосферного воздуха с повышенной влажностью. Через 2 суток после выделения первичной культуры неприкрепившуюся клеточную взвесь удаляли, а оставшиеся клетки с фибробластоподобной морфологией продолжали культивировать. Замену культуральной среды на свежую, осуществляли каждые 3–4 суток. После образования субконфлюэнтного монослоя клетки однократно отмывали раствором Версена, затем снимали раствором Версена с 0,25% трипсина, ресуспендировали в ростовой среде и разливали в новую культуральную посуду. Для эксперимента использовали клетки 1-го и 2-го пассажа.

Клеточный материал, представляющий собой прикрепившиеся к пластику распластанные фибробластоподобные клетки (мезенхимальные стромальные клетки), считался пригодным для трансплантации, так как сохранял популяционную активность и не содержал погибшие клетки. Стромальное происхождение ММСК КМ было подтверждено иммуногистохимически в культуре путем выявления в них коллагена I типа с помощью кроличьих моноклональных АТ («Имтэк»).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе применен комплекс клинических, биохимических, морфологических и иммуноферментных методов исследования. Общий объем специализированных исследований, выполненных в динамике при проведении работы, представлен в табл. 1.

Биохимические методы исследования

Для изучения содержания АлАТ, АсАТ, билирубина, ГГТ и щелочной фосфатазы у крыс под эфирным наркозом надсекали кончик хвоста, пипеткой забирали 28–32 мкл крови, наносили на специальные тест-полоски Reflotron™, которые сразу же устанавливали в биохимический анализатор Reflotron™ («Roche», Швейцария).

Таблица 1

Количество выполненных специализированных исследований

Методы исследования (исследования проводили на 1, 7, 14, 21, 28, 60, 90-е сутки)		Кол-во
Морфологические исследования	Гистологическое исследование печени	95
	Морфометрическое исследование печени:	
	1. Подсчет двуядерных гепатоцитов	95
	2. Определение удельной площади соединительной ткани	95
	Иммуногистохимические исследования:	
	1. С использованием АТ к десмину	40
	2. С использованием АТ к PCNA	40
	3. С использованием АТ к альфа-фетопротеину	40
	4. С использованием АТ к α -ГМА	40
	5. С использованием АТ к каспазе-3	40
	6. С использованием АТ к каспазе-9	40
	7. С использованием АТ к Bcl-2	40
Биохимический анализ	Определение уровней ферментов в крови: АлАТ, АсАТ, ГГТ, билирубина, щелочной фосфатазы	95
Иммуноферментный анализ	Определение про- и противовоспалительных цитокинов: ФНО- α , ИНФ- γ , ИЛ-10, ИЛ-4	40
		40
Итого:		740

Гистологические и гистохимические методы исследования

Изучение структурных нарушений в паренхиме печени проводили морфологическими методами. Аутопсию проводили на 3, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-е сутки после окончания курса затравки; после ревизии брюшной полости извлекали фрагмент средней доли печени. Ткань печени разрезали на кусочки размерами $3 \times 4 \times 5$ мм, помещали в раствор Буэна (через 24 часа раствор Буэна меняли на 70% этанол) для фиксации. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори для выявления соединительной ткани.

Морфометрическое исследование ткани печени

Морфометрический анализ срезов фрагмента средней доли печени был произведен тремя исследователями с помощью морфометрической программы ImageScoreM (ООО «Системы для микроскопии и анализа»,

Россия). Исследуемые изображения получены с использованием микроскопа LeicaDM1000 и камеры Leica LTDCN9435 DFC 295 (LeicaCamera AG, Германия).

Данным методом определяли: наличие цирроза (подсчет количества ложных долек); долю соединительной ткани (в процентном соотношении к общей площади среза П); выраженность жировой дистрофии (оценивали 10 полей зрения среза каждого образца); внутридольковый фиброз (оценивали 10 полей зрения среза каждого образца); количество двуядерных гепатоцитов (на 10 полей зрения среза при увеличении $\times 400$).

Иммуногистохимический метод исследования

Иммуногистохимическое исследование проводили стрептавидин-биотинным методом. Метод иммуногистохимического окрашивания основан на выявлении какого-либо антигена на срезе ткани с помощью специфически с ним связывающихся меченых антител [Полак Дж., 1987], то есть на исследуемом срезе фактически происходит реакция связывания антигена и антитела. В настоящее время визуализация продукта реакции чаще всего осуществляется с помощью ферментной метки (пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза), которая «пришита» (конъюгирована) к молекуле антитела. При выявлении активности фермента в субстрат добавляют хромоген, который в процессе реакции фермент/субстрат образует цветной нерастворимый осадок, выпадающий в местах локализации антигена. В настоящей работе были использованы коммерческие моноклональные антитела фирм DAKO и Abcam: к десмину – маркеру промежуточных филаментов звездчатых (перисинусоидальных) клеток; α -ГМА – маркеру миофибробластов и миофибробластоидной дифференцировки звездчатых клеток печени; к каспазам (Caspase 3 и Caspase 9) – белкам протеолитической системы, являющихся центральным звеном в механизме апоптоза (Caspase 9 – одна из каспаз обратимого апоптоза, необходимая для узнавания и передачи сигнала клеточной гибели; Caspase 3 – вовлекается в процесс необратимого расщепления структурных компонентов жизнеобеспечения клетки, участвует в регуляции межгенных взаимодействий, восстановлении ДНК и ядерной мембраны) [Guicciardi, 2005]; к Bcl2 – антиапоптотическому маркеру (Bcl2 – один из основных регуляторов апоптоза, может останавливать апоптоз, опосредуемый белком p53 или иными механизмами. Bcl2 белок локализован в митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме и перинуклеарной мембране. Он подавляет естественно происходящую клеточную гибель предположительно путем регуляции транспорта кальция в клетке); к альфа-фетопротеину (АФП) – маркеру пролиферирующих гепатоцитов, который выявляется во взрослой печени во время регенерации [Abelev, 1963]; к PCNA – ядерному антигену пролиферирующих клеток (Proliferating Cell Nuclear Antigen). Этот антиген является кофактором ДНК-полимеразы и

может быть обнаружен в клетках, находящихся в S-фазе клеточного цикла и некоторое время после ее окончания) [Lee, Hurwitz, 1990].

Определение жизнеспособности культивированных ММСК КМ проводили перед трансплантацией по окраске трипановым синим, которая составляла $95 \pm 2\%$.

Исследование цитокинового статуса в сыворотке крови включало определение содержания про- и противовоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИНФ- γ , ИЛ-4, ИЛ-10) в сыворотке крови животных после моделирования ТФП без и на фоне применения ММСК. Содержание цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «Протеиновый контур» (С.-Петербург), «Вектор-Бест» (Новосибирск), результаты фиксировали на анализаторе ChemWell® («Awareness Technology», США).

Методы статистической обработки

Статистическую обработку результатов производили на персональном компьютере с использованием специального статистического пакета Biostat; достоверность различий между сравниваемыми группами оценивали по критерию t-Стьюдента с учетом поправки Бонферонни. В таблицах приведены средние значения величин, где $\pm$ стандартное отклонение (SD). Различия считали достоверными при $p < 0,05$ (Статистический пакет рекомендованный ВОЗ EpiInfo 5.0).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было установлено, что в первой серии опытов с моделированием токсического фиброзирующего повреждения печени (ТФП) после кратковременного и не сильно выраженного усиления процессов фиброзирования в печени (до 7 суток) с 14-х суток наступал период стабилизации в образовании соединительной ткани (рис. 2). Однако, начиная с 28-х суток, процессы фиброзирования печени начинали неуклонно прогрессировать. Во второй серии опытов с моделированием ТФП и однократным введением ММСК КМ (на 3-и сутки) на 14-е сутки, по сравнению с первой контрольной серией, наблюдали более высокий уровень развития фиброза в печени при морфометрическом исследовании удельной площади соединительно-тканых структур в этом органе; в дальнейшем происходило небольшое снижение этого показателя, но на 60–90-е сутки имело место вновь усиление фиброза, которое, однако, не достигало контрольных значений. В третьей серии опытов с двукратным введением ММСК КМ на ранних сроках развития ТФП (3-и и 10-е сутки) наблюдалась более высокая степень нарастания доли соединительной ткани в печени к 14-м суткам ($p < 0,05$), затем уровень фиб-

розирования печени начинал неуклонно снижаться на каждом последующем сроке наблюдения.

В четвертой серии опытов с двукратным введением ММСК КМ на стадии развернутого фиброзирования печени (30-е и 37-е сутки после моделирования ТФП) динамика процессов фиброзирования в печени практически не отличалась от контрольной (первой) серии опытов. Это дало нам основание считать, что через месяц после моделирования ТФП тканевые резервы адаптации, обеспечивающие предотвращение развития соединительной ткани, практически израсходованы, и перестройка метаболизма в печени с помощью той же дозы клеток, что и в третьей серии опытов, становится невозможной.

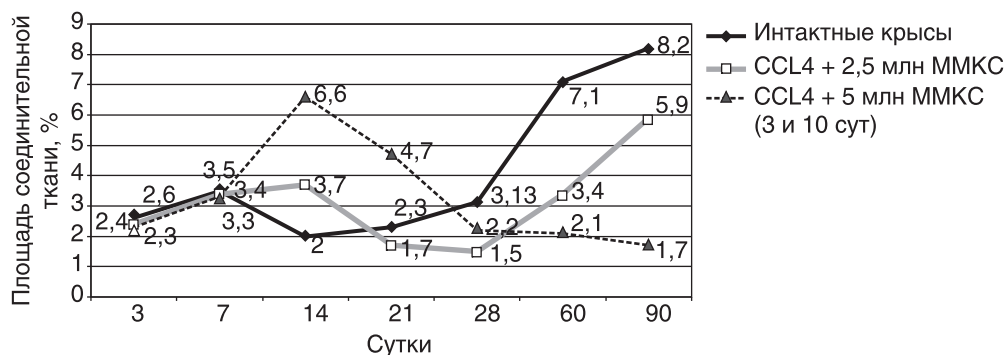


Рис. 2. Динамика удельной площади (%) соединительно-тканых структур на гистологических срезах печени животных с моделью ТФП без и с последующей трансплантацией ММСК КМ на ранних сроках фиброзирования печени

Среднее значение показателя у интактных животных – $1,4 \pm 0,2\%$.

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем на том же сроке наблюдения

Динамическое исследование экспрессии десмина – маркера ранней активации звездчатых клеток показало, что при ТФП без применения ММСК КМ (первая серия) отмечается повышенная экспрессия этого маркера в течение первого месяца (к 21 суткам), которая становилась отчетливо выраженной к 60 суткам наблюдения. Однако, однократное введение ММСК КМ при ТФП (вторая серия) способствовало отчетливому увеличению экспрессии десмина уже на 14-е сутки, но затем к 60-м суткам развития ТФП экспрессия этого маркера снижалась (рис. 3), что указывало на снижение в печени активированных звездчатых клеток. Двукратное введение ММСК при ТФП (третья серия опытов) приводило к особенно позитивному изменению динамики второго маркера активации звездчатых клеток – α -ГМА (рис. 4). Было установлено, что у животных с ТФП без применения ММСК КМ происходило сначала снижение α -ГМА (до

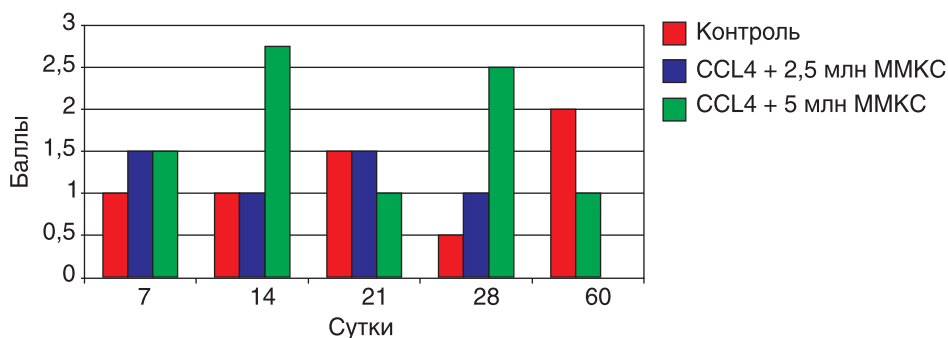


Рис. 3. Динамика изменения количества звездчатых клеток печени, экспрессирующих десмин, при ТФП без и на фоне раннего введения ММСК КМ

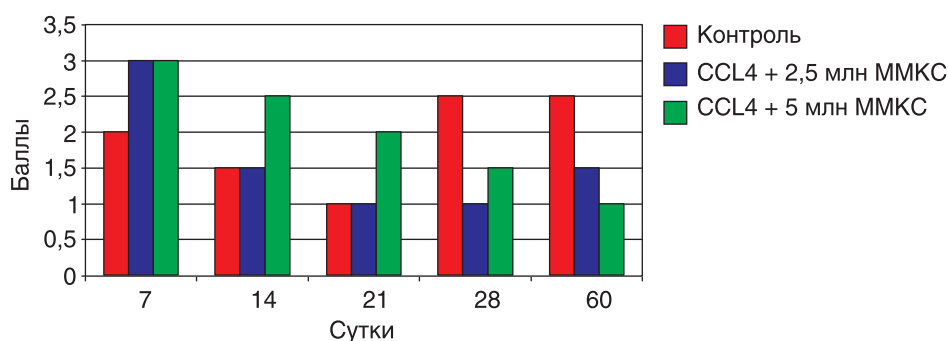


Рис. 4. Динамика изменения количества звездчатых клеток печени, экспрессирующих α-ГМА, при ТФП без и на фоне раннего введения ММСК КМ

21-х суток), которое сменялось его повышением на отдаленных сроках и такая динамика коррелировала с усилением процессов фиброзирования печени, являющихся финалом развития ТФП. При двукратном введении ММСК КМ происходило более резкое, чем в контроле, повышение этого показателя (к 7-м суткам), который при дальнейшем динамическом исследовании начинал неуклонно снижаться, коррелируя со снижением фиброзирования печени в этой серии опытов (рис. 2).

Эти данные позволили нам прийти к заключению, что формирование фибролитического действия ММСК КМ при ТФП имеет двухфазную динамику, причем развитие фибролитического действия этих клеток проходит через фазу усиления процессов фиброзирования в печени и это следует учитывать при проведении клеточной терапии.

Динамическое изучение экспрессии маркера необратимого апоптоза (каспазы-3) в первой контрольной серии – позволило установить начало

активации каспазы-3 на 7-е сутки, усиление к 14-м суткам и достижение максимума активации на 3-й и 4-й неделе после затравки. Применение ММСК КМ (во второй и третьей серии опытов) способствовало более ранней и выраженной экспрессии каспазы-3 на 7-е сутки по сравнению с контрольной серией, причем при двукратном введении клеток экспрессия каспазы-3 была особенно выражена на 14-е сутки и превосходила значения экспрессии этого показателя по сравнению с контролем и однократным применением ММСК (рис. 5). Начиная с 21-х суток экспрессия каспазы-3 в обеих группах с применением ММСК начинала снижаться и во все сроки наблюдения была ниже, чем в контроле. Особенно выраженное снижение экспрессии каспазы-3 в печени отмечалось на 60-м сутки после в опытах с ТФП и двукратным введением ММСК.

При исследовании экспрессии маркера обратимого клеточного апоптоза – каспазы-9 мы отметили большую выраженность экспрессии этого маркера в опытах с введением ММСК, но особенно выраженная экспрессия этого маркера была отмечена нами на всех сроках при двукратном введении ММСК (рис. 6). Мы отметили также, что во всех сериях опытов экспрессия маркера необратимого апоптоза – каспазы-3 в течение первых 3-х недель была выше, чем экспрессия каспазы-9, но на 28-е сутки и 60-е сутки в опытах с двукратным введением ММСК – экспрессия каспазы-9 – маркера обратимого апоптоза (рис. 6) начинала преобладать. По нашему мнению, этот факт свидетельствовал о сохраняющейся и поддерживаемой в печени с помощью ММСК адаптивной перестройки метаболизма, за счет которой происходит перепрограммирование процессов регенерации в печени с фиброзирующей на восстановительную. Динамика экспрессии антиапоптотического маркера – Bcl-2 показывает, что более выраженная адаптивная перестройка и более раннее завершение перепрограммирования процессов регенерации в печени с помощью ММСК, очевидно, связано с более ранней, чем в контроле, экспрессией антиапоптотических генов, и это должно было бы, по нашему мнению, коррелировать с ранней активацией процессов клеточной пролиферации.

Действительно, в течение первых 3-х недель после моделирования ТФП и применения ММСК (вторая и третья серии опытов) нами выявлено усиление экспрессии маркера пролиферации гепатоцитов альфа-фето-протеина (АФП), особенно выраженное в серии с двукратным введением клеток. Мы обратили также внимание на тот факт, что под влиянием ММСК КМ процесс активации пролиферации гепатоцитов ускоряется (более выраженная экспрессия АФП), но уже к концу 1-го месяца этот процесс угнетается.

Полученные нами результаты позволяют заключить, что перепрограммирование процессов регенерации в токсически поврежденной печени с фиброзирующего типа на репаративный тип регенерации с помощью ММСК является следствием нормализации взаимодействия паренхима-

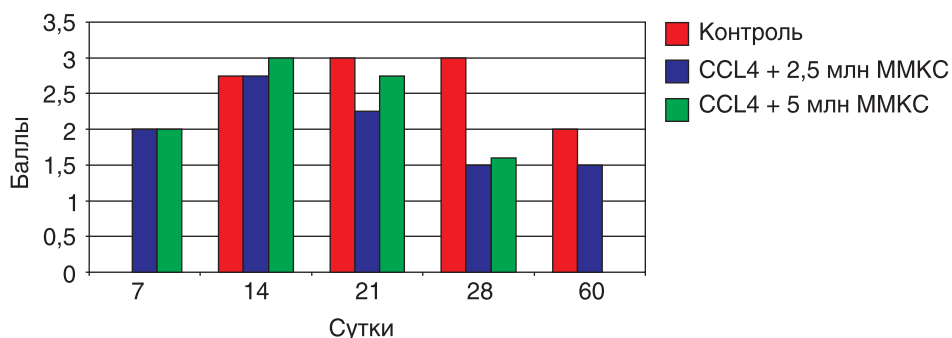


Рис. 5. Динамика количества клеток печени, экспрессирующих каспазу-3, при моделировании ТФП без и на фоне раннего введения ММСК КМ

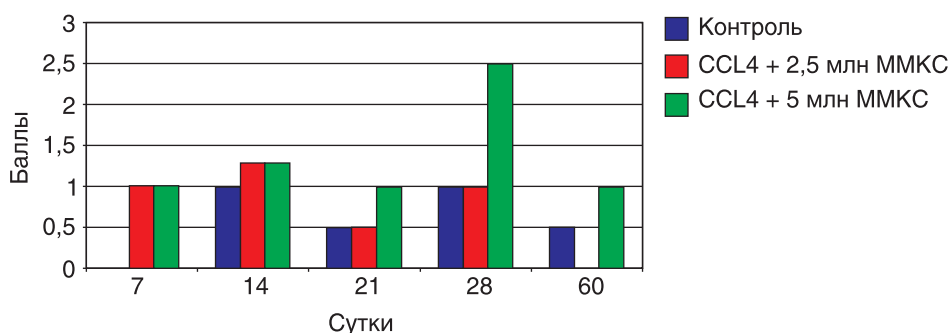


Рис. 6. Динамика количества клеток печени, экспрессирующих каспазу-9, при моделировании ТФП без и на фоне раннего введения ММСК КМ

тозных и стромальных структур печени за счет ингибирования фиброзирующей активности звездчатых клеток и ранней индукции пролиферации гепатоцитов в условиях реализации сохранившихся резервов адаптации в ткани печени.

ВЫВОДЫ

1. Модель токсического фиброзирующего повреждения печени у крыс, созданная путем оптимизации схемы введения CCl_4 пригодна для изучения влияния мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на процессы фиброгенеза в печени, т. к. воспроизводит гистологические признаки усиленного разрастания соединительной ткани в печени.

2. Динамика морфологических нарушений в печени при фиброзирующем повреждении характеризуется двухэтапным накоплением соединительной ткани (незначительное увеличение-стабилизация и неуклонное разрастание соединительной ткани), а также увеличением количества активированных звездчатых клеток печени и пролиферации преимущественно непаренхиматозных клеток (более высокая экспрессия PCNA, чем экспрессия АФП).
3. Культивированные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки аллогенного костного мозга обладают способностью корректировать процессы фиброзирования в токсически поврежденной печени, однако выраженность корректирующего антифибротического эффекта этих клеток находится в прямой зависимости от дозы (кратности введения клеток), а также от срока их применения (степени тяжести предсуществующих фиброзирующих изменений в печени).
4. Однократная трансплантация аллогенных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга здоровых доноров на начальном этапе развития хронического фиброзирующего повреждения печени (на 3-и сутки) снижает интенсивность развития фиброзной ткани в поврежденной печени по сравнению с контролем (5,9 против 8,1%, т. е. в 1,4 раза), но не устраняет этот процесс. Удвоение дозы клеток за счет двукратной трансплантации аллогенных мезенхимальных стромальных клеток на начальном этапе развития хронического фиброзирующего повреждения печени (на 3-и и 10-е сутки) ведет к более выраженному регрессу фиброзной ткани в поврежденной печени как по сравнению с контролем (1,7 против 8,1%, т. е. в 4,7 раза), так и с однократным введением ММСК (1,7 против 5,9%, т. е. в 3,4 раза).
5. Двукратная отсроченная трансплантация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, на стадии развернутого фиброзирующего повреждения печени (на 30-е и 37-е сутки), в тех же дозах, которые использовались на ранних сроках его коррекции, не сопровождается снижением интенсивности развития фиброзной ткани в хронически поврежденной печени.
6. Развитие антифибротического эффекта ММСК КМ, примененных в эффективных дозах (двукратное применение) на начальном этапе развития фиброзирующего повреждения печени, характеризуется двухфазной динамикой: первоначальным усилением процессов фиброзирования П, которое затем сменяется резорбцией соединительной ткани. Двухфазная динамика развития фибролитического эффекта ММСК сопровождается первоначальным повышением экспрессии маркеров активации звездчатых клеток – десмина и α -ГМА, маркеров апоптоза – каспазы-3, клеточной пролиферации – PCNA и пролиферации гепатоцитов – АПФ, которое затем сменяется выраженным снижением экспрессии этих показателей.

7. Развитие антифибротического эффекта ММСК КМ, примененных в эффективных дозах (двукратное применение) на начальном этапе развития фиброзирующего повреждения печени происходит за счет сохранившихся резервов адаптации структурных элементов печеночной ткани и регуляторных систем организма (более выраженное восстановление баланса про- и противовоспалительных цитокинов в крови по сравнению с контролем и с однократным введением ММСК КМ).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Модель токсического фиброзирующего повреждения печени может быть использована в качестве модели устойчивого ТФП для отработки новых способов лечения и профилактики фиброзирования печени, в том числе методами клеточной терапии.
2. Для проведения терапии клетками костного мозга могут быть использованы методики выделения и культивирования клеток костного мозга, отработанные в настоящем исследовании.
3. Для эффективной коррекции патогенетических нарушений, возникающих при фиброзирующем повреждении печени, трансплантацию культивированных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга необходимо проводить в достаточной дозе (терапевтической) на начальных стадиях развития заболевания, когда сохранены адаптационные резервы регуляции восстановительных процессов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Людуп А.В., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А.** Применение аллогенных мезенхимальных клеток костного мозга в лечении хронических заболеваний печени (экспериментальная работа) // Сборник материалов Всероссийской конференции «Клеточные исследования и технологии в современной биомедицине». Тула, 2009. – С. 6–8.
2. **Shagidulin M., Krashennnikov M., Lyundup A., Iljinsky I., Mogeiko N., Petrova N., Sevastjanov V., Onishchenko N., Gautier S.** Transplantation of multipotent mesenchymal stromal cells seeded on biodegradable heterogenous carrier for stimulation of reparative processes in damaged organs // Mesenchymal stem cells in Solid Organ Transplantation. MISOT 2nd Expert Meeting. – 2010. – P. 23.
3. **Lyundup A.V., Krashennnikov M.E., Shagidulin M.Y., Onischenko N.A.** Application of mesenchymal bone marrow stem cells to liver regenerative medicine // Mesenchymal stem cells in Solid Organ Transplantation. MISOT 2nd Expert Meeting. – 2010. – P. 24.
4. **Людуп А.В., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Шагидулин М.Ю.** О роли синусоидальных клеток печени и клеток костного мозга в обеспечении регенераторной стратегии здоровой и поврежденной печени. (Анали-

- тический обзор) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – № 1. – Т. XII. – С. 78–85.
5. **Людуп А.В., Онищенко Н.А., Шагидулин М.Ю., Крашенинников М.Е.** Стволовые/прогениторные клетки печени и костного мозга как регуляторы восстановительной регенерации поврежденной печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – № 2. – Т. XII. – С. 100–107.
 6. **Lazebnik L, Onishchenko N.A., Lyundup A.V., Trubitsyna I.E., Knyazev O.V., Deev R.V., Krasheninnikov M.E., Shagidulin M.Y.** Regeneration of toxic damaged liver in rats after introduction of mesenchymal stromal bone marrow cells // 6th Central European gastroenterology meeting. Book of Abstracts. – 2010. – P. 36.
 7. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lyundup A., Nemets E., Sevastjanov V., Gautier S.** Transplantation liver cells and multipotent mesenchymal stromal cells for correction and treatment of hepatic failure // Book of Abstracts ESSR. – 2010. – P. 149–150.
 8. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lyundup A., Nemets E., Sevastjanov V., Gautier S.** Transplantation liver cells and multipotent mesenchymal stromal cells for correction and treatment of hepatic failure // British J. of Surgery. – 2010. – Vol. 94 (S4). – P. 37–38.
 9. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lyundup A., Shemerko N., Andriyanova A., Nemets E., Sevastjanov V., Gautier S.** Transplantation liver cells and multipotent mesenchymal stromal cells for correction and treatment of hepatic failure // Medimond. International Proceedings. – 2010. – P. 83–86.
 10. **Людуп А.В., Деев Р.В., Трубицына И.Е., Князев О.В., Крашенинников М.Е., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.** Роль мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в регенерации токсически поврежденной печени крыс // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Приложение. – Т. XII. – С. 291–292.
 11. **Lyundup A.V., Shagidulin M.Y., Krasheninnikov M.E., Onishchenko N.A.** The using of mesenchymal bone marrow stem cells for recovery liver regeneration // APASTB 2010 Congress. – Book of Abstracts 13th International Conference of Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banks. – 2010. – P. 7–8.
 12. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lyundup A., Nemets E., Sevastjanov V., Gautier S.** Long-term surviving mesenchymal bone marrow stem cells as an active part of intracorporeal support units // Tissue Engineering: Part A. 2011. – Vol. 17. – № 3, 4. – P. 544–545.
 13. **Людуп А.В., Деев Р.В., Трубицына И.Е., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.** Использование мезенхимальных клеток костного мозга для коррекции структуры и функции печени при хроническом гепатите // Сборник материалов XVIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – 2011. – С. 459.
 14. **Lyundup A., Shagidulin M., Trubitsyna I., Deev R., Onishchenko N., Krasheninnikov M.** Using bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of toxic damaged liver in rats // Mesenchymal stem cells in Solid Organ Transplantation. MISOT 3rd Expert Meeting. – 2011. – P. 28.

15. *Онищенко Н.А., Люндун А.В., Шагидулин М.Ю., Крашенинников М.Е.* Синусоидальные клетки печени и клетки костного мозга как компоненты единой функциональной системы регуляции восстановительного морфогенеза в здоровой и поврежденной печени // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – № 2. – Т. VI. – С. 73–87.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CCl4	–	четыреххлористый углерод
PCNA	–	proliferating cell nuclear antigen
α -ГМА	–	гладкомышечный альфа-актин
АФП	–	альфа-фетопроtein
ККМ	–	клетки костного мозга
КМ	–	костный мозг
ММСК	–	мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки
ТФП	–	токсическое фиброзирующее повреждение печени
ХПН	–	хроническая печеночная недостаточность

Пищулина Марина Эдуардовна

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ
И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
НЕОПТЕРИНА И sCD30
ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ**

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Москва – 2012

Работа выполнена в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор

Шевченко Ольга Павловна

доктор медицинских наук,
профессор

Цирульников Ольга Мартеновна

Актуальность темы

Трансплантация печени является эффективным, а иногда и единственным методом лечения пациентов с заболеваниями печени в терминальной стадии. Более 80% пациентов после трансплантации живут пять и более лет и продолжают вести активный образ жизни [Готье С.В. и соавт., 2008; *Hasegawa K., 2005*]. С 1997 года в России функционирует педиатрическая программа трансплантации печени, которая позволила эффективно излечивать детей раннего возраста с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепато-билиарной системы.

К настоящему времени, когда благодаря решению организационных вопросов, достижениям в хирургии, совершенствованию анестезиологического обеспечения, адекватной периоперационной терапии и иммуно-

супрессии накоплен большой клинический опыт трансплантации печени, и существенно улучшились результаты операций, большую актуальность приобретают вопросы наблюдения за течением послеоперационного периода, прогнозирования развития осложнений с использованием, по возможности, неинвазивных и информативных методов. Последнее особенно важно для детей раннего возраста.

В последние годы в клинической трансплантологии активно исследуются биомаркеры, уровень которых в крови может отражать активность процессов, непосредственно определяющих реакцию организма на присутствие трансплантата и динамику течения посттрансплантационного периода. Среди таких маркеров важное место занимают неоптерин и растворимая форма CD30 (sCD30).

Неоптерин – производное гуанозинтрифосфата, продуцируемый преимущественно моноцитами/макрофагами в результате их активации в процессе иммунного ответа. В трансплантологии этот маркер используется для прогнозирования и мониторинга острого и хронического отторжения, оценки эффективности лечения, а также для дифференцирования инфекционных осложнений и острого отторжения после трансплантации сердца и почки [Funch D. et. al., 1992; Шевченко О.П. и соавт., 2003].

CD30 – поверхностный трансмембранный гликопротеин, член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли, преимущественно экспрессируется Т лимфоцитами человека. Показано, что повышение концентрации растворимой формы CD30, присутствующей в плазме крови, является эффективным предиктором отторжения у реципиентов почки и сердца. [Weimer R. et al., 2006; Kim K.H. et al., 2006]. Диагностическое и прогностическое значение неоптерина и sCD30 при трансплантации печени изучено мало, а у детей таких исследований практически нет.

Цель исследования

Определить диагностическое и прогностическое значение неоптерина и sCD30 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы.

Задачи исследования

1. Оценить содержание неоптерина и sCD30 в плазме крови детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы и связь этих показателей с клиническими и лабораторными данными.
2. Оценить связь уровня неоптерина и sCD30 у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы с концентрацией биомаркеров воспаления (С-реактивного белка), тромбообра-

зования (растворимой формы лиганда CD40, sCD40L) и регулятора обмена железа (гепсидина).

3. Изучить динамику уровней неоптерина и sCD30 у реципиентов печени в посттрансплантационном периоде.
4. Изучить динамику концентраций неоптерина и sCD30 у реципиентов печени при дисфункции трансплантата, ее связь с изменением уровней рутинных лабораторных показателей, а также оценить прогностическое значение исходных уровней неоптерина и sCD30, определяемых на этапе дооперационного обследования.
5. Охарактеризовать содержание неоптерина и sCD30 при бактериальных инфекциях у реципиентов печени в посттрансплантационном периоде.
6. Рассчитать показатели чувствительности и специфичности тестов на неоптерин и sCD30 при развитии дисфункции трансплантата у реципиентов печени.

Научная новизна исследования

Впервые установлено, что у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы содержание в плазме крови неоптерина и sCD30 выше, чем у здоровых лиц, детей и взрослых, что указывает на активацию различных звеньев иммунной системы.

Впервые охарактеризована динамика неоптерина и sCD30 у детей раннего возраста после родственной трансплантации фрагмента печени и выявлена связь повышения концентрации этих маркеров с развитием дисфункции трансплантата.

Новыми являются данные о прогностическом значении неоптерина и sCD30 в посттрансплантационном периоде при дисфункции печеночного трансплантата.

Практическая значимость исследования

Измерение концентрации неоптерина и sCD30 в плазме крови реципиентов после трансплантации печени позволяет прогнозировать развитие дисфункции трансплантата за 1–3 дня до увеличения уровня биохимических показателей, отражающих состояние гепато-билиарной системы.

Исследование уровней неоптерина и sCD30 позволяет сделать предположение о природе дисфункции трансплантата: повышение концентрации маркеров активации макрофагов и Т-лимфоцитов в плазме крови может указывать на участие иммунных механизмов.

Установленная высокая чувствительность и специфичность тестов на неоптерин и sCD30 позволяет рекомендовать их использование при наблюдении за течением посттрансплантационного периода у детей-реципиентов печени.

Положения, выносимые на защиту

1. У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний печени и желчевыводящих путей повышено содержание маркера активации макрофагов – неоптерина и маркера активации Т-лимфоцитов – sCD30 в плазме крови, что отражает активацию различных звеньев иммунной системы. После трансплантации печени происходит постепенная нормализация этих показателей.
2. У реципиентов печени динамика уровней маркеров активации иммунной системы связана с течением посттрансплантационного периода.
3. Увеличение концентрации неоптерина и sCD30 в плазме крови при развитии дисфункции трансплантата предшествует повышению уровней рутинных биохимических показателей состояния гепато-билиарной системы.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 2 статьи в центральных рецензируемых журналах, 2 – за рубежом.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в отделении № 2 отделения абдоминальной хирургии и трансплантации ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России, в учебном процессе на циклах повышения квалификации врачей на кафедре клинической лабораторной диагностики ГОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава», на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 13 октября 2011 года в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Минздравсоцразвития России» (ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова).

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены: на IV, V всероссийских съездах трансплантологов (Москва, 9–10 ноября 2008 г., 8–10 октября 2010 г.), всероссийской конференции с международным участием «Трансплантация печени в России: 20 лет спустя» (Москва, 14 февраля 2010г.), XXIII International Congress of the Transplantation Society (Vancouver, Canada, 15–19 August, 2010.).

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики больных и методов исследования, 2 глав собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, 6 выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы. Работа изложена на 119 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 таблицами и 28 рисунками. Список литературы включает 37 отечественных и 114 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа основана на анализе данных, полученных при обследовании 72 реципиентов печени и 38 родственных доноров фрагмента печени. Возраст реципиентов составил от 6 до 28 (средний возраст 17 ± 11) месяцев. Возраст доноров – от 18 до 56 (средний возраст 37 ± 19) лет. Группу сравнения составили 15 детей-реконвалесцентов, получивших лечение в стационаре по поводу дисбактериоза, в возрасте от 3 до 21 мес. (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов

Реципиенты	
Кол-во пациентов	72
Средний возраст ($M \pm m$), мес.	17 ± 11 (от 6 до 28)
Пол: мальчики/девочки	33/39
Родственные доноры печени	
Кол-во доноров	38
Средний возраст ($M \pm m$), лет	37 ± 19 (от 18 до 56)
Пол: мужчины/женщины	22/16
Группа сравнения	
Кол-во детей	15
Средний возраст ($M \pm m$), мес.	$9,9 \pm 5,7$ (от 3 до 21)
Пол: мальчики/девочки	12/3

Обследование и лечение больных проводилось в хирургическом отделении № 2 отделения абдоминальной хирургии и трансплантации ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова. Плановое обследование пациентов включало: клиническую оценку состояния больного, общий анализ крови, общий анализ мочи, определение клиренса креатинина, измерение концентрации общего белка, альбумина, активности ферментов аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтранспептидазы, содержания билирубина, общего холес-

терина и липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов, глюкозы, мочевины, микроэлементов (Ca, Mg, P), электролитов, исследование коагулограммы (активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс, концентрация фибриногена) (в диагностической лаборатории, заведующая – к. м. н. Н.П. Шмерко), бактериологические исследования крови, зева, мочи (в бактериологической лаборатории, заведующая – д. м. н. Н.И. Габриэлян), анализ на вирусные инфекции (CMV, EBV, HCV, HBV) (в лаборатории трансплантационной иммунологии, заведующий – к. м. н. В.Ю. Абрамов). Всем реципиентам печени выполняли комплексное ультразвуковое исследование брюшной полости.

Пациентам выполнялась ортотопическая трансплантация левого латерального сектора печени от живого родственного донора (академик РАМН, профессор С.В. Готье). После трансплантации печени все реципиенты получали двух-трех компонентную иммуносупрессивную терапию, включающую такролимус, метилпреднизолон и микофенолаты (при трехкомпонентной терапии).

Концентрацию sCD30 и sCD40L в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «BenderMedSystems», Австрия, неоптерина и гепсидина – «IBL», Германия, концентрацию такролимуса на автоматическом анализаторе Siemens Dimension Xpand, США. Концентрацию СРБ определяли методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением («Orion», Финляндия).

Статистическая обработка результатов исследования производилась с использованием пакета статистических программ SPSS11.5 (LEAD Technologies Inc., США). При анализе и документировании результатов исследования использовали методы описательной статистики: вычисление среднего арифметического (M), среднего стандартного отклонения (s), верхней и нижней границ 95% доверительного интервала (95% ДИ), медианы распределения. Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по t-критерию Стьюдента (для признаков с нормальным распределением) или по критерию Манна–Уитни. Точное значение t определяли с помощью статистической программы SPSS11.5 (задавалось число степеней свободы при $p = 0,05$). Для анализа взаимодействия чувствительности и специфичности диагностического теста использовался метод построения ROC кривых.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Концентрация неоптерина и sCD30 у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы

У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепато-билиарной системы уровень неоптерина в плазме кро-

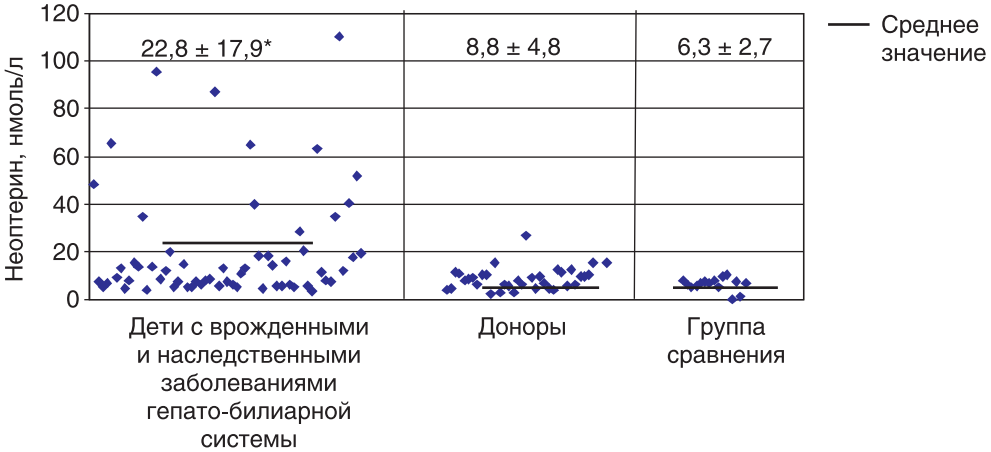


Рис. 1. Уровень неоптерина в плазме крови детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы, доноров и в группе сравнения

* – $p < 0,05$ в сравнении с уровнем у доноров и у детей группы сравнения

ви составил $22,8 \pm 17,9$ нмоль/л и был достоверно выше ($p < 0,05$), чем у здоровых взрослых родственных доноров печени ($8,8 \pm 4,8$ нмоль/л) и у детей группы сравнения ($6,3 \pm 2,7$ нмоль/л) (рис. 1).

Уровень sCD30 в плазме крови у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы составил $84,9 \pm 43,8$ нг/мл и был достоверно выше ($p < 0,01$), чем у доноров – $26,4 \pm 12,0$ нг/мл и у детей группы сравнения – $32,6 \pm 6,9$ нг/мл (рис. 2).

Средняя концентрация неоптерина и sCD30 не различалась у мальчиков и девочек (неоптерин: $22,3 \pm 20,1$ и $21,8 \pm 19,0$ нмоль/л соответственно, $p = 0,13$; sCD30: $85,6 \pm 40,2$ и $84,4 \pm 47,5$ нг/мл соответственно, $p = 0,16$) и не зависела от возраста пациента (неоптерин: $r = -0,16$, $p = 0,08$; CD30: $r = 0,19$, $p = 0,08$) в исследованном возрастном диапазоне (от 6 до 28 месяцев).

Концентрация неоптерина у детей с атрезией желчевыводящих путей до трансплантации была выше в сравнении с таковой у детей с синдромом Кароли, синдромом Алажиля и болезнью Байлера ($p < 0,05$) (рис. 3).

Концентрация sCD30 у детей, страдающих болезнью Байлера, была достоверно ниже, чем у детей с атрезией желчевыводящих путей ($p < 0,05$) (рис. 4).

Допустимо предположить, что выявленные различия в уровнях маркеров связаны с различной степенью вовлечения иммунных механизмов в патогенез исходного заболевания, однако, учитывая относительно небольшие количества наблюдений, для обоснованного заключения необходимы более широкие исследования.

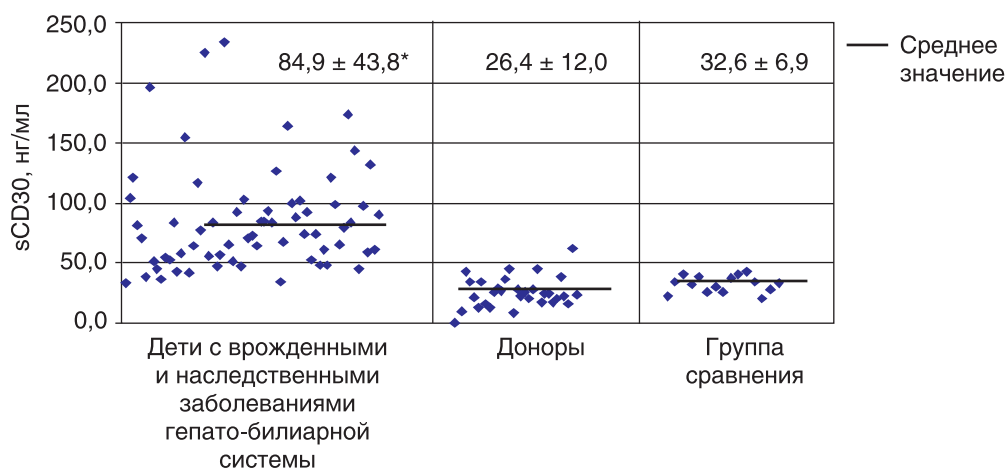


Рис. 2. Уровень sCD30 в плазме крови детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы, доноров и в группе сравнения

* – $p < 0,01$ в сравнении с уровнем у доноров и у детей группы сравнения

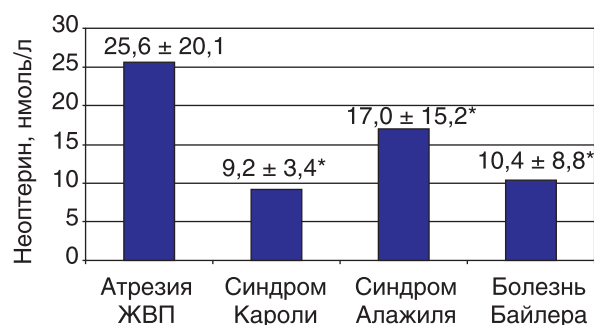


Рис. 3. Сравнительный анализ уровня неоптерина у пациентов с различными заболеваниями гепато-билиарной системы

* $p < 0,05$ в сравнении с уровнем у пациентов с атрезией желчевыводящих путей

Не было выявлено корреляционной связи уровня неоптерина и sCD30 с величиной рутинно используемых лабораторных показателей, отражающих состояние гепато-билиарной системы (табл. 2).

Не выявлено связи концентраций неоптерина и sCD30 с содержанием биомаркеров воспаления – С-реактивного белка, тромбообразования – sCD40L и регулятора обмена железа – гепсидина (табл. 3). Обнаружена слабая корреляция концентраций неоптерина и sCD30 ($r = 0,44$; $p = 0,039$).

Отсутствие корреляционной связи уровней неоптерина и sCD30 с другими лабораторными показателями указывает на независимость исследу-

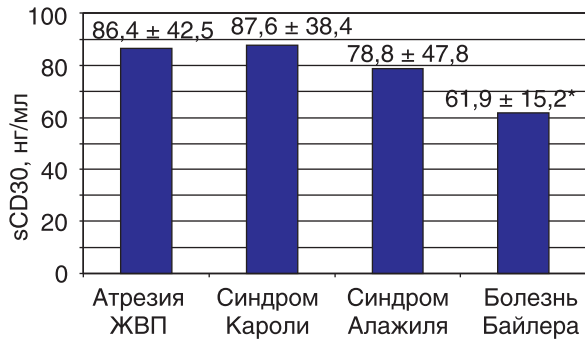


Рис. 4. Сравнительный анализ уровня sCD30 у пациентов с различными заболеваниями гепато-билиарной системы

* $p < 0,05$ в сравнении с реципиентами с атрезией ЖВП

Таблица 2

Результаты анализа корреляционной связи уровней неоптерина и sCD30 с величиной лабораторных показателей у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы

Параметры	Неоптерин		sCD30	
	r	p	r	p
Общий билирубин, ммоль/л	-0,09	0,08	0,03	0,091
Креатинин, ммоль/л	0,19	0,07	0,1	0,089
Гамма-глутамилтранспептидаза, Ед/л	0,19	0,07	0,12	0,092
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	0,12	0,08	0,18	0,087
Аспартатаминотрансфераза, Ед/л	0,03	0,093	0,15	0,086
Щелочная фосфатаза, Ед/л	0,05	0,094	0,15	0,154
Альбумин, г/л	-0,05	0,091	-0,06	0,097

Таблица 3

Результаты анализа корреляционной связи уровней неоптерина и sCD30 и других биомаркеров у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы

Параметры	Неоптерин		sCD30	
	r	p	r	p
С-реактивный белок, мг/л	0,11	0,079	0,17	0,085
sCD40L, нг/мл	0,13	0,078	0,05	0,081
Гепсидин, нг/мл	0,36	0,060	0,21	0,085

емых маркеров активации иммунной системы от клинически значимых лабораторных параметров, используемых для оценки состояния потенциальных реципиентов.

Динамика уровней неоптерина и sCD30 у реципиентов после трансплантации печени

Уровень неоптерина у реципиентов печени на 5–7-е сутки после трансплантации составил $53,3 \pm 42,1$ нмоль/л и был достоверно выше такового до трансплантации ($22,8 \pm 17,9$ нмоль/л) ($p < 0,05$). В последующем происходило постепенное снижение концентрации неоптерина и к концу первого месяца его средний уровень в плазме крови реципиентов достоверно не отличался от исходного значения, определяемого на этапе дооперационного обследования. У родственных доноров после резекции печени концентрация неоптерина изменялась незначительно (рис. 5).

Уровень sCD30 у реципиентов печени после трансплантации постепенно снижался и на 21–24-е сутки был достоверно ниже в сравнении с уровнем до трансплантации. У родственных доноров после резекции печени отмечалось достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня sCD30 на 5–7-е сутки с последующим снижением, однако ни у одного из доноров sCD30 не превысил уровня 66,7 нг/мл, принятого за верхнюю границу нормальных значений у здоровых лиц (рис. 6).

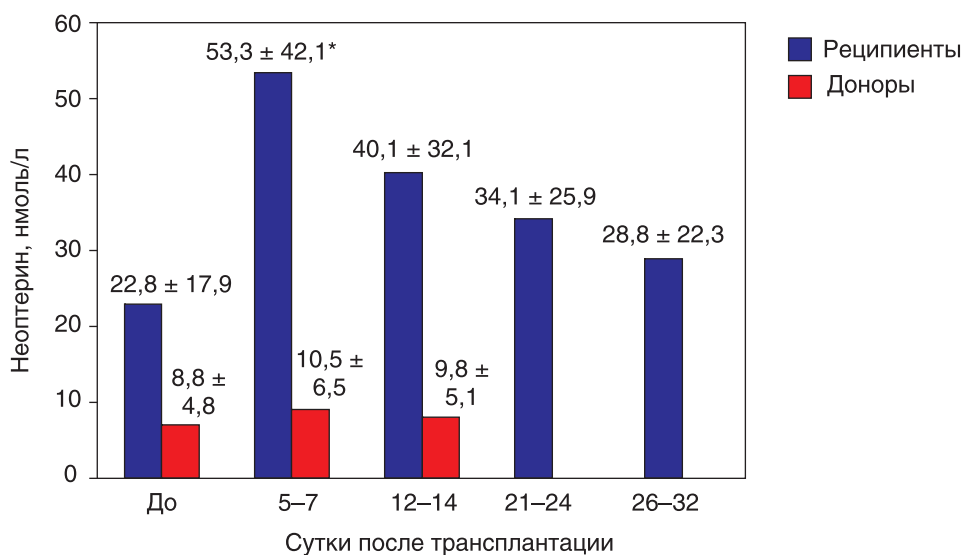


Рис. 5. Динамика уровня неоптерина у реципиентов и доноров печени

* $p < 0,05$ в сравнении с уровнем до трансплантации

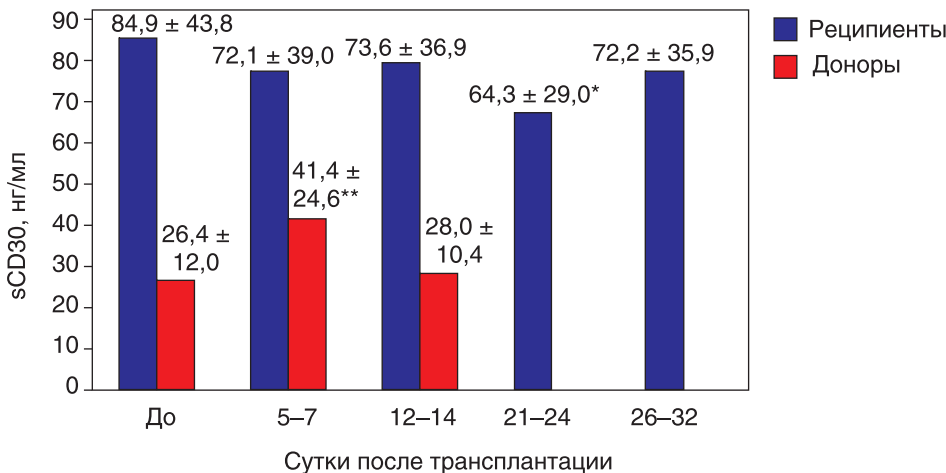


Рис. 6. Динамика уровня sCD30 у реципиентов и доноров печени

* $p < 0,01$ в сравнении с уровнем до трансплантации;

** $p < 0,05$ в сравнении с уровнем до резекции.

Спустя год после трансплантации печени средний уровень неоптерина в плазме крови реципиентов достоверно не отличался от такового до трансплантации, но имела место отчетливая тенденция к его снижению. Уровень sCD30 в плазме крови реципиентов печени через год после трансплантации был достоверно ниже в сравнении с исходным, определяемым на этапе дотрансплантационного обследования (рис. 7).

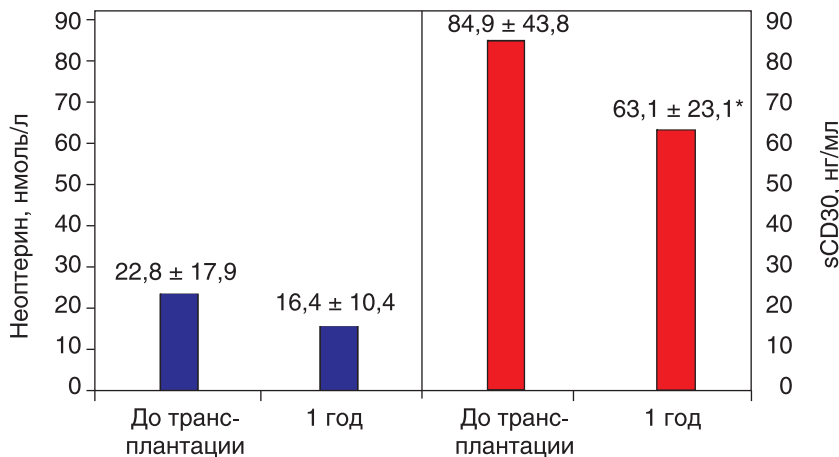


Рис. 7. Сравнительный анализ уровня неоптерина и sCD30 у реципиентов печени до и спустя год после трансплантации

* $p < 0,05$ в сравнении с уровнем до трансплантации

Динамика уровней неоптерина и sCD30 у реципиентов печени при различном течении посттрансплантационного периода

У 16 из 72 находившихся под наблюдением реципиентов печени на 26–32-е сутки после трансплантации развилась дисфункция трансплантата, которая проявлялась, в том числе, резким, значительным повышением активности аминотрансфераз и ферментов холестаза печени и была купирована после коррекции иммуносупрессивной терапии. Динамика уровней неоптерина и sCD30 у реципиентов с дисфункцией трансплантата отличалась от таковой у остальных реципиентов (рис. 8, 9). Концентрации обоих маркеров на 26–32-е сутки у реципиентов с дисфункцией трансплантата были достоверно выше, чем у реципиентов без дисфункции. Более того, повышение уровня неоптерина во всех случаях происходило за 1–2 дня, а sCD30 за 2–3 дня до появления рутинных лабораторных признаков дисфункции трансплантата.

Для оценки связи уровней неоптерина и sCD30, определяемых на этапе дооперационного обследования, с прогнозом развития дисфункции трансплантата мы отобрали реципиентов с уровнями этих маркеров до трансплантации выше и ниже медианы распределения – 15,9 нмоль/л для неоптерина и 60,5 нг/мл для sCD30. У реципиентов с дисфункцией трансплантата, развившейся на 26–32-е сутки, исходно высокий уровень неоптерина (выше медианы распределения) был выявлен у 7 (43%) реципиентов печени. В группе без дисфункции исходно высокий уровень этого маркера выявлен у 15 пациентов (31%). Исходно высокий уровень sCD30 был выявлен у 9 (69%) реципиентов печени с дисфункцией трансплантата и у 32 реципиентов (64%) без дисфункции. Сравнительный анализ не выявил достоверных различий в частоте встречаемости исходно высоких уровней неоптерина и sCD30 в этих группах реципиентов. Проведенный анализ показал, что исходно высокие уровни маркеров, определяемых на этапе дотрансплантационного обследования, не имеют прогностического значения в качестве предикторов развития дисфункции пересаженной печени, но в посттрансплантационном периоде возрастание концентраций неоптерина и sCD30 на 1–3 дня опережает появление биохимических признаков дисфункции трансплантата. Учитывая, что активация клеток иммунной системы с высвобождением специфических медиаторов может происходить и при инфекционных осложнениях, для изучения динамики неоптерина и sCD30 с характером течения посттрансплантационного периода были выделены три группы пациентов. В первую группу были включены реципиенты, у которых в течение первого месяца после трансплантации были диагностированы бактериальные инфекции ($n = 13$), проявляющиеся клиническими данными и подтвержденные положительными результатами микробиологических исследований. Вторую группу составили реципиенты печени с развившейся на 26–32-е сутки дисфунк-

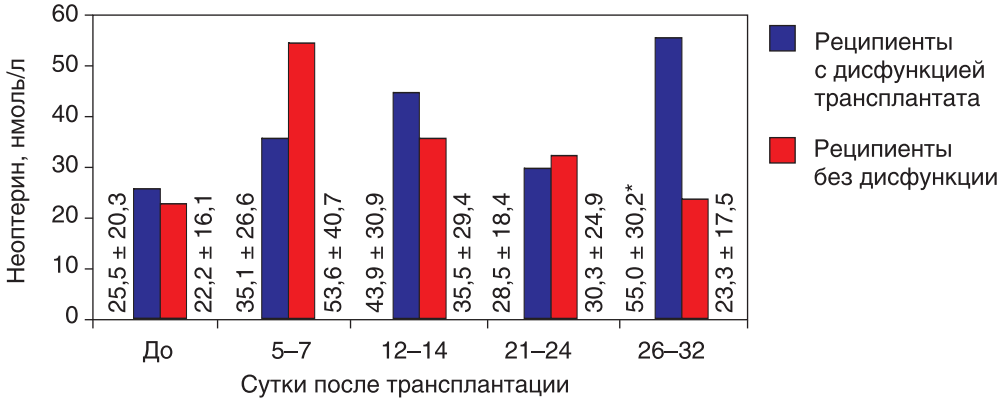


Рис. 8. Динамика уровня неоптерина у реципиентов с дисфункцией и без дисфункции трансплантата

* $p < 0,05$ в сравнении с реципиентами без дисфункции трансплантата

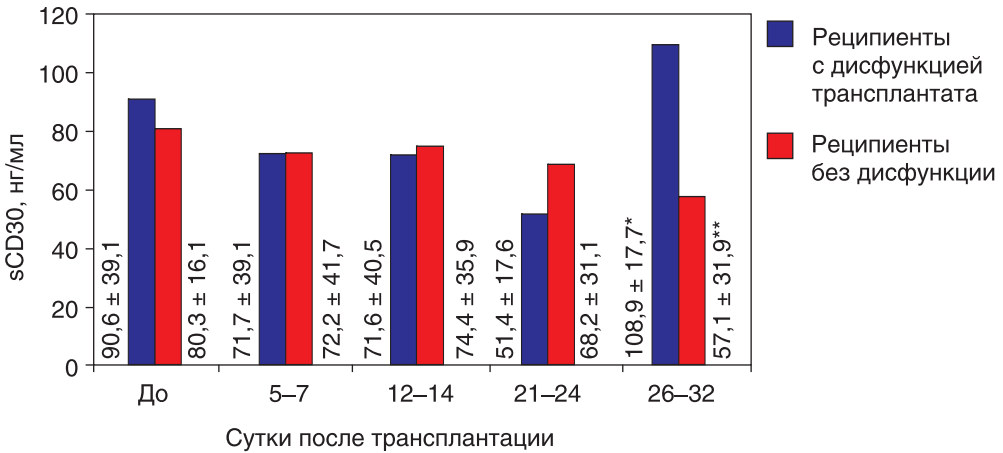


Рис. 9. Динамика уровня sCD30 у реципиентов с дисфункцией и без дисфункции трансплантата

* $p < 0,01$ в сравнении с уровнем у реципиентов без дисфункции;

** $p < 0,05$ в сравнении с уровнем до трансплантации

цией трансплантата. Третью группу, условно обозначенную «без осложнений», составили остальные 43 пациента, у которых в течение первого месяца после операции не было выявлено ни дисфункции трансплантата, ни бактериальной инфекции.

Сравнительная характеристика содержания маркеров активации иммунной системы, а также С-реактивного белка у пациентов выделенных

групп показала, что у пациентов развитие бактериальной инфекции в сравнении с пациентами без дисфункции и без бактериальных инфекций («без осложнений») сопровождается достоверным и значительным (примерно в 3 раза) повышением среднего уровня неоптерина и более чем в 6 раз – уровня С-реактивного белка. Для реципиентов с развившейся дисфункцией трансплантата оказался характерным высокий уровень неоптерина и sCD30, в то время как содержание С-реактивного белка не отличалось от такового у реципиентов «без осложнений» (рис. 10).

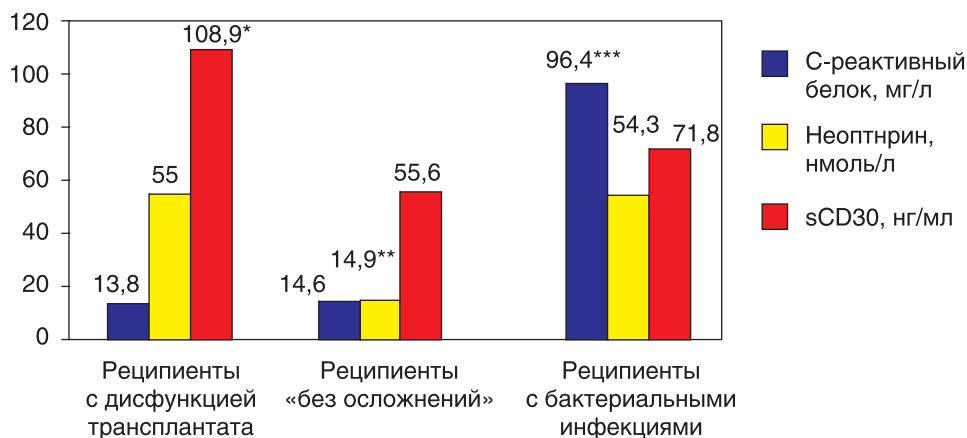


Рис. 10. Сравнительный анализ уровней СРБ, неоптерина и sCD30 в группах реципиентов с дисфункцией трансплантата, «без осложнений», с бактериальными инфекциями

* $p < 0,05$ в сравнении с уровнем у реципиентов «без осложнений» и с бактериальной инфекцией; ** $p < 0,05$ в сравнении с уровнем у реципиентов с дисфункцией трансплантата и с бактериальными инфекциями; *** $p < 0,05$ в сравнении с уровнем у реципиентов «без осложнений» и с дисфункцией трансплантата

Таким образом, при дисфункции трансплантата происходит повышение уровней неоптерина, отражающего степень активации макрофагов, и sCD30, отражающего степень активации Т-лимфоцитов, в то время как подъема уровня С-реактивного белка, являющегося чувствительным интегральным индикатором активности воспаления, не происходит. При бактериальных инфекциях наблюдается подъем уровней неоптерина и СРБ, в то время как уровень sCD30 изменяется в меньшей степени, чем при развитии дисфункции. Анализ данных о динамике концентраций указанных биомаркеров позволяет сделать предположение о природе и участвующих патогенетических механизмах процессов и может быть полезным при дифференцировании указанных состояний.

Оценка клинической эффективности определения уровней неоптерина и sCD30 у реципиентов печени

Для оценки клинической эффективности определения уровней неоптерина и sCD30 в качестве диагностического теста при дисфункции трансплантата печени были рассчитаны показатели чувствительности и специфичности. Для расчета диагностического значения неоптерина за верхнюю границу была принята медиана распределения у всех реципиентов печени, вычисленная через месяц после трансплантации – 15,9 нмоль/л. Для расчета диагностического значения sCD30 у реципиентов с дисфункцией трансплантата за верхнюю границу принято значение 60,5 нг/мл – медиана распределения уровня sCD30 у всех реципиентов через месяц после трансплантации. Данные клинической эффективности тестов на неоптерин и sCD30 при их изолированном и сочетанном определении у реципиентов с дисфункцией трансплантата представлены в табл. 4. Анализ взаимодействия чувствительности и специфичности (ROC-анализ) диагностического теста на неоптерин представлен на рис. 11.

Таблица 4

Диагностическое значение неоптерина и sCD30 у реципиентов с дисфункцией трансплантата

Показатели клинической эффективности теста	Диагностическое значение, %		
	НП	sCD30	НП + sCD30
Диагностическая чувствительность	100	100	100
Диагностическая специфичность	54,2	73,3	86
Диагностическая значимость положительных результатов	45	72	86
Диагностическая значимость отрицательных результатов	93	93	100

Площадь под ROC кривой для неоптерина составила $0,75 \pm 0,2$ ед², 95% ДИ: 0,54–0,94, $p = 0,05$. При использовании в качестве отрезной точки (cut-off) значения концентрации 15,9 нмоль/л, чувствительность метода составляет 100%, а специфичность 54,2%.

Анализ взаимодействия чувствительности и специфичности (ROC-анализ) диагностического теста на sCD30 представлен на рис. 12.

Площадь под ROC кривой для sCD30 составила $0,87 \pm 0,17$ ед², 95% ДИ: 0,7–1,04; $p = 0,01$. При использовании в качестве отрезной точки (cut-off) значения концентрации 60,5 нмоль/л, чувствительность метода составляет 100%, а специфичность 73,3%.

Результаты настоящей работы показали, что дисфункция трансплантационной печени сопровождается значительным повышением уровней

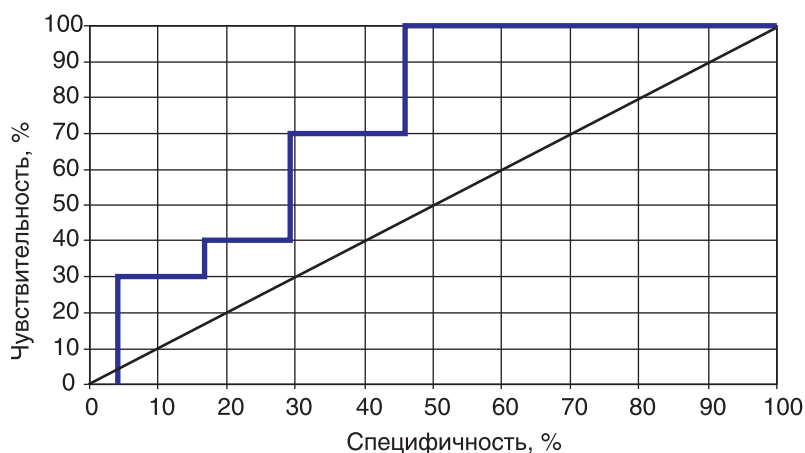


Рис. 11. ROC-кривая маркера неоптерина для диагностики дисфункции трансплантата

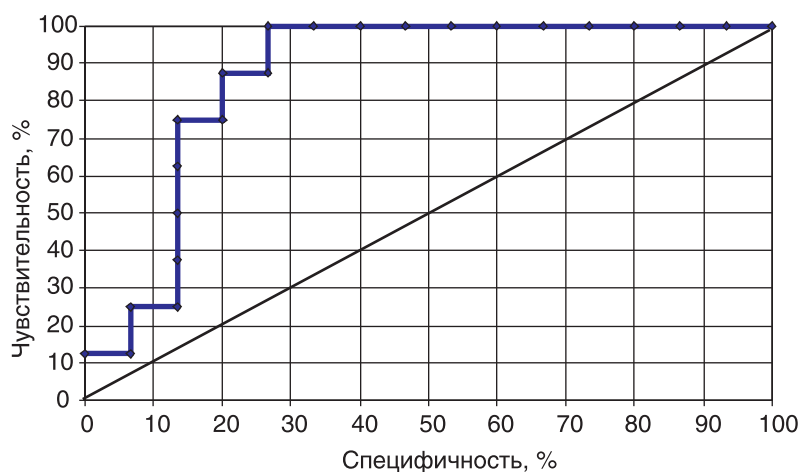


Рис. 12. ROC-кривая маркера sCD30 для диагностики дисфункции трансплантата

неоптерина и sCD30. При бактериальных инфекциях также происходит повышение уровня неоптерина, в меньшей степени – sCD30, при значительном повышении уровня С-реактивного белка, что целесообразно учитывать при оценке природы и дифференцировании указанных осложнений. Исходно высокие уровни неоптерина и sCD30, определенные на этапе дооперационного обследования, не связаны с развитием дисфункции трансплантата печени. Сочетанное определение обоих маркеров в

послеоперационном периоде имеет достаточно высокую чувствительность и специфичность не только в диагностике, но и в прогнозировании развития дисфункции трансплантата.

ВЫВОДЫ

1. У детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы уровни неоптерина, отражающего активацию макрофагов, и sCD30, отражающего активацию Т-лимфоцитов, выше, чем у здоровых лиц, детей и взрослых, что указывает на активацию различных звеньев иммунной системы. Концентрация неоптерина и sCD30 в плазме крови не зависит от пола, содержания альбумина, билирубина, креатинина, а также активности ферментов, отражающих состояние гепато-билиарной системы: аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы.
2. Уровни неоптерина и sCD30 в плазме крови реципиентов печени не зависят от концентрации биомаркеров воспаления (С-реактивного белка), тромбообразования (sCD40L) и регулятора обмена железа (гепсидина), но связаны между собой ($r = 0,44$; $p = 0,039$).
3. После трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепато-билиарной системы происходит постепенное снижение уровней неоптерина и sCD30 в плазме крови реципиентов: спустя месяц ($28,8 \pm 22,3$ нмоль/л, $72,2 \pm 35,9$ нг/мл соответственно), а также через год ($16,4 \pm 10,4$ нмоль/л, $63,1 \pm 23,1$ нг/мл соответственно) концентрация маркеров активации иммунной системы ниже, чем до трансплантации ($22,8 \pm 17,9$ нмоль/л, $84,9 \pm 43,8$ нг/мл соответственно).
4. У реципиентов печени с развившейся на 26–32-е сутки дисфункцией трансплантата уровни неоптерина и sCD30 выше, чем у реципиентов без дисфункции. Повышение концентрации неоптерина отмечается за 1–2 дня, а sCD30 – за 2–3 дня до возрастания активности ферментов цитолиза. Исходно высокие уровни неоптерина и sCD30, определяемые на этапе дооперационного обследования, не связаны с развитием дисфункции трансплантата.
5. Бактериальные инфекции у реципиентов печени характеризуются повышением уровня неоптерина и умеренным повышением уровня sCD30, что коррелирует со значительным ($96,4 \pm 38,7$ мг/л) повышением концентрации С-реактивного белка.
6. Диагностическая чувствительность сочетанного определения неоптерина и sCD30 в плазме крови реципиентов при дисфункции трансплантата составляет 100%, а специфичность – 86%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение уровня неоптерина и sCD30 у реципиентов печени целесообразно для наблюдения за течением раннего посттрансплантационного периода.
2. Повышение уровня неоптерина выше 15,9 нмоль/л и sCD30 выше 60,5 нг/мл в посттрансплантационном периоде может являться ранним признаком, предшествующем развитию дисфункции трансплантированной печени.
3. Обнаружение в посттрансплантационном периоде повышения уровней неоптерина, sCD30 и С-реактивного белка характерно для развития бактериальной инфекции у реципиентов печени.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Шевченко О.П., Бугров А.В., Орлова О.В., Пищулина М.Э. и соавт. Маркеры иммунной активации – sCD30 и неоптерин при трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов. 2008. – С. 185.
2. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Пищулина М.Э. и соавт. Неоптерин при трансплантации печени детям с врожденными заболеваниями печени и желчевыводящих путей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – № 2. – С. 58–62.
3. Gautier S.V., Tsirulnikova O.M., Ammosov A.A., Gichkun O.E., Pitshulina M.E., Kuncovich N.V., Shevchenko O.P. Pediatric living donors liver transplantation: soluble CD40 ligand as an early predictor of graft dysfunction. – XXIII International Congress of the Transplantation Society, Vancouver, Canada, august 15–19, 2010.
4. Shevchenko O.P., Pitshulina M.E., Gichkun O.E. et al. Plasma levels of soluble CD30 and neopterin in pediatric living donors liver transplantation. XXIII International Congress of the Transplantation Society, Vancouver, Canada, august 15–19, 2010.
5. Кунцевич Н.В., Пищулина М.Э., Гичкун О.Е. и соавт. sCD30 при трансплантации печени у детей с врожденными заболеваниями печени и желчевыводящих путей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов, 8–10 октября 2010 г. – С. 134–135.
6. Пищулина М.Э., Диатроптов М.Е., Олефиренко Г.А. и соавт. Оценка уровня неоптерина при родственной трансплантации печени у детей раннего возраста // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов, 8–10 октября 2010г. – С. 132–133.
7. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Диатроптов М.Е., Кунцевич Н.В., Макарова Л.В., Пищулина М.Э., Гичкун О.Е., Аммосов А.А., Цирульникова О.М., Готье С.В. Клиническая эффективность и перспективы анализа биомарке-

ров при пересадке печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов – Материалы конференции «Трансплантация печени 20 лет спустя». – 2010. – Том XII. – С. 28–29.

8. **Пищулина М.Э., Гичкун О.Е., Орлова О.В.** Иммуноферментный анализ концентрации иммуносупрессантов: опыт измерения содержания такролимуса в крови реципиентов солидных органов. – Лаборатория. – 2011. – № 2. – С. 3.
9. **Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Цирульников О.М., Пищулина М.Э.** и соавт. Уровень sCD30 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями печени и желчевыводящих путей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – № 4. – С. 37–42.

Уваров Константин Александрович

МУЛЬТИСПИРАЛЬНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ И МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ОБСЛЕДОВАНИИ ДОНОРОВ ПРИ РОДСТВЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФРАГМЕНТА ПЕЧЕНИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

14.01.13 – лучевая диагностика, лучевая терапия

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2011

Работа выполнена в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

Научные руководители:

член-корреспондент РАМН,

доктор медицинских наук,

профессор

кандидат медицинских наук

Готье Сергей Владимирович

Абрамова Наталья Николаевна

Актуальность исследования

Трансплантация трупной печени или фрагмента печени от живого родственного донора в настоящее время является единственным способом лечения больных с терминальной стадией печеночной недостаточности. Терминальная печеночная недостаточность – исход естественного течения многих хронических и острых заболеваний печени, врожденных и очаговых поражений печени, охватывающих различные группы населения, включая детей раннего детского возраста.

Количество родственной трансплантации печени в последнее время возрастает, поскольку это позволяет частично решить проблему дефицита

донорских органов, избежать длительного периода ожидания донорского органа, а также обеспечить возможность выбора оптимального периода для трансплантации с минимальным риском для донора. Трансплантация печени от родственного донора является планируемой операцией, что позволяет определить тактику хирургического вмешательства и произвести подготовку донора и реципиента, одним из важнейших аспектов которой является подробнейшее обследование выбранного потенциального донора.

Стандартное обследование донора включает полный набор лабораторных и инструментальных методов исследования. Использование инструментальных методов диагностики служит важным прогностическим критерием, который определяет тактику проведения резекции фрагмента печени у донора, позволяя на дооперационном этапе уточнить технические возможности получения полноценного печеночного трансплантата при полном сохранении возможностей реабилитации донора. На современном этапе развития мировой медицины основными инструментальными методами обследования пациентов данной группы является мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) и магнитно-резонансная холангиография (МРХГ). Методы практически безопасны для пациента, поскольку являются малоинвазивными и, наряду с этим, обладают высокой разрешающей способностью в визуализации паренхимы печени, сосудистых структур и желчных протоков при МРХГ. Специфика родственной трансплантации определяет высокий уровень требований к результатам томографии. Необходимость совершенствования методов, использования контрастных препаратов, изучение возможностей повышения разрешающей способности исследования, уточнение временных параметров прохождения контрастных средств через интересующие структуры, использование новых программ обработки изображения, определило актуальность проведения данного исследования. Накоплен достаточный опыт в МСКТ, МРТ-исследованиях печени, печеночных артерий, вен и желчных протоков. Однако по мере совершенствования техники и программного обеспечения томографов многие диагностические проблемы решаются быстрее, повышается качество изображений, появляется возможность более четко оценить структурно-анатомические особенности органа.

Цель исследования

Изучить возможности МСКТ и МРХГ, оптимизировать методики проведения данных процедур в исследованиях печени, печеночных артерий, портальных, печеночных вен и желчных протоков у родственных доноров при планировании операции резекции печени для получения трансплантата.

Задачи исследования

1. Разработать оптимальные методические подходы к проведению МСКТ с болюсным контрастным усилением для четкой визуализации печеночных артерий, портальных и печеночных вен. Оптимизировать методики МРХГ, в том числе, с контрастным усилением.
2. Изучить возможности МСКТ для качественной и количественной оценки состояния паренхимы печени донора, в определении объема (массы) планируемого для резекции фрагмента печени.
3. Определить диагностическую значимость МСКТ с болюсным контрастным усилением в визуализации печеночных артерий и вен в сопоставлении с операционными данными и систематизировать варианты их строения.
4. Оценить место МРХГ в обнаружении вариантов строения желчных протоков у донора фрагмента печени в сравнении с операционными данными.
5. Установить роль методов МСКТ и МРХГ в планировании операции родственной трансплантации печени с учетом соотношения объемов печени и ее фрагмента, вариантов сосудистой и билиарной анатомии, показать возможности виртуальной резекции фрагмента печени.

Научная новизна

В представленном исследовании анализ обширного клинического материала позволил сформировать комплексный подход к томографическому обследованию потенциальных доноров фрагмента печени. Показана диагностическая ценность и информативность метода МСКТ с болюсным контрастным усилением в оценке состояния паренхимы печени, соотношения объемов ее долей, особенностей артериального и венозного кровообращения. Определены оптимальные параметры проведения исследования, позволяющие эффективно производить постпроцессинг. Исследована возможность точного определения объема печени и ее фрагмента методом МСКТ-вольуметрии. Показана целесообразность использования МСКТ высокого разрешения с большим количеством твердотельных детекторов при выявлении крупных и мелких сосудистых структур печени, влияющих на тактику проведения операции. Большое количество клинического материала дало возможность не только обнаружить анатомические варианты кровоснабжения и билиарной анатомии печени, описанные в используемой классификации, но и дополнить последнюю.

Продемонстрированы диагностические возможности программ МРХГ и нового гепатотропного гадолиний содержащего контрастного препарата «Примовист» для выявления вариабельности строения желчных протоков. Установлена оптимальная программа МРХГ с использованием нави-

гатора, синхронизированная с движением диафрагмы и обеспечивающая наилучшую визуализацию внутри- и внепеченочных желчных протоков.

В работе впервые применены различные виды трехмерных реконструкций изображений, обеспечивающих пространственную визуализацию печени, сосудистой и билиарной систем. Впервые использована программа Mimick 13,0 для построения точных трехмерных моделей печени человека, отражающих сосудистую анатомию органа, с возможностью дополнительной интерпретации данных и подсчета объема трансплантата.

В исследовании сформирован комплекс томографического обследования доноров при планировании операции родственной трансплантации фрагмента печени.

Практическая значимость исследования

Включение методик МСКТ и МРТ в протокол обследования родственного донора необходимо для изучения анатомических особенностей сосудистой и билиарной анатомии печени. В исследовании продемонстрирован комплексный подход к томографическому обследованию пациентов данной группы. По результатам работы даны конкретные практические рекомендации по выбору оптимальных параметров при проведении МСКТ и параметров импульсных последовательностей при МРХГ, в том числе при применении контрастирования.

Установлены основные анатомические ориентиры, позволяющие систематизировать полученные данные, впоследствии определяющие тактику проведения хирургической процедуры резекции печени. Показано значение точности определения объема (массы) будущего трансплантата методом МСКТ с учетом соотношения объемов долей печени.

Данные методики внедрены в повседневную клиническую практику при планировании операций родственной трансплантации фрагмента печени, а также при обследовании пациентов с разнообразными заболеваниями печени и желчных протоков. Использование в клинической практике данных методов позволит значительно сократить частоту или отказаться от применения инвазивных методов диагностики.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 4 научные работы, из них 2 статьи в центральных рецензируемых журналах.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 16.09.2011 на совместном заседании рентгенодиагностического отделения и отделения абдоминальной хирургии и трансплантации печени в ФГУ «Федеральный научный центр

трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России. Материалы и основные положения работы доложены и обсуждены: на V Всероссийском съезде трансплантологов (8–10 октября 2010 г.).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 115 источников, из них 22 отечественных и 93 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 97 рисунками, 19 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на анализе данных, полученных при обследовании 200 потенциальных доноров фрагмента печени за период с сентября 2008 г. по январь 2011 г. (109 мужчин и 91 женщина) в возрасте от 19 до 54 лет, средний возраст составил $34,1 \pm 9,06$ года. На момент настоящего исследования 80 донорам была проведена резекция печени с целью получения трансплантата: у 32 человек – правой доли (ПД), у 48 человек – левого латерального сектора (ЛЛС).

Всем потенциальным донорам после проведения лабораторных и клинических тестов была проведена МСКТ на приборе «Somatom Sensation 64» (Siemens, Германия). Программой выбора при проведении МСКТ явился мультифазный протокол сканирования с подобранными параметрами, который включал нативное исследование, артериальную, портальную и отсроченную фазы (фаза печеночных вен) сканирования, выполненные на одной задержке дыхания в каждую из фаз. Параметры проведения исследования: коллимация рентгеновского пучка 5,0 мм, питч – 1,2, направление движения стола краниокаудальное. Внутривенное контрастирование неионного контрастного препарата в дозе 80–110 мл (содержание йода 350–370 мг/мл) со скоростью введения 4,5–5,0 мл/с проводилось с использованием автоматического шприца-инжектора (Medrad, США). Болюс (контраст) отслеживался автоматически при помощи программы «Bolus Tracking» с установкой точки «Trigger» на нисходящую аорту для обеспечения точных сроков наступления артериальной фазы. Постпроцессинг осуществлялся на трехмерной карте, где представлены следующие виды реконструкций: MPR (мультипланарные реконструкции), MIP (проекция максимальных интенсивностей), VRT (объемное представление объекта). Полученные данные в зависимости от области интереса реконструировались с толщиной среза от 0,75 до 5,0 мм.

Подсчет объема предполагаемого трансплантата и печени в целом производился в программном приложении «Volume» путем обведения зоны интереса на последовательных аксиальных срезах, при этом проводилась виртуальная послойная резекция предполагаемого для трансплантации фрагмента печени.

Параметры сканирования подбирались на основании диагностического изображения в разные фазы исследования путем ограничения временных рамок сканирования, за счет чего достигалась максимальная рентгенконтрастность тканей и сосудистых структур.

Для систематизации данных по кровоснабжению и билирной анатомии печени использовалась классификация по Готье С.В. и соавт., основанная на патологоанатомических исследованиях, выполненных в ГУ «РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского РАМН».

МРХГ проводилась с использованием МР-томографа «Sonata» с напряженностью магнитного поля 1,5 Т (Siemens, Германия). Для проведения исследования желчных протоков применяются следующие программы: Localizer (прицельное изображение), T2 – TRUFI COR TRA bh, T2 haste COR thin bh, программа синхронизирована с движением диафрагмы 3D T2 tse 3D rst-COR- 384-trig без задержки дыхания с использованием навигатора. При внутривенном введении контрастного препарата «Примовист» у 15 человек использовалась трехмерная T1 программа T1-f1-3D-ts. Постпроцессинг с изучением желчных протоков осуществлялся на 3D-карте с использованием MPR и MIP-реконструкций.

Полученные результаты учитывались при определении информативности метода МСКТ и МРХГ. При расчете эффективности метода определялись его чувствительность и точность. Рассчитывалось точное значение «р» (Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$).

Формулы, использованные при определении информативности методик:

$$\text{Чувствительность} = \frac{\text{ИП}}{\text{ИП} + \text{ЛО}} \times 100\%$$

$$\text{Точность} = \frac{\text{ИП} + \text{ИО}}{\text{ИП} + \text{ИО} + \text{ЛП} + \text{ЛО}} \times 100\%$$

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ изображений МСКТ-ангиографии ($n = 200$) печени производился по следующим критериям:

1. Полученные варианты артериального кровоснабжения были классифицированы согласно выявленным основным притокам к долям печени от крупных сосудов гепатопанкреатодуоденальной зоны.

2. Портальное кровоснабжение печени оценивалось согласно виду деления основного ствола воротной вены на боковые ветви.
3. При изучении кавального оттока печени, учитывались основные варианты впадения трех печеночных вен в НПВ.

При исследовании артериального кровоснабжения печени в большинстве случаев определялся классический «тип I», то есть деление общей печеночной артерии (ОПА) на желудочно-двенадцатиперстную и собственно печеночную артерию (СПА). По направлению к воротам печени СПА отдавала правую желудочную артерию, и в воротах печени дихотомически делилась на левую (ЛПА) и правую (ППА) долевыми ветвями. Наряду с представленным классическим вариантом артериального кровоснабжения печени были выявлены другие варианты. Часто встречающимся вариантом явилось наличие ветви от левой желудочной артерии – «тип III», отмеченный у 32 доноров ($16,0 \pm 2,6\%$), в том числе, у 12 человек ($6,0 \pm 1,2\%$) в сочетании с классическим делением чревного ствола. Отсутствие ствола собственно печеночной артерии («тип II»), то есть деление общей печеночной артерии по типу трифуркации на желудочно-двенадцатиперстную, ППА и ЛПА, определялось у 23 человек ($11,5 \pm 2,3\%$). Участие верхней брыжеечной артерии (ВБА) в кровоснабжении печени при «типе IV» наблюдалось в различных вариантах у 26 доноров ($13 \pm 1,5\%$). Отхождение общей печеночной артерии от ВБА («тип IV А») было показано у 5 доноров ($2,5 \pm 1,1\%$), автономное кровоснабжение правой доли от ВБА («тип IV В») у 18 доноров ($9,0 \pm 2,0\%$), а также наличие дополнительной артерии к правой доле от ВБА («тип IV С»), в сочетании с классическим делением чревного ствола – у 3 доноров ($1,5 \pm 0,9\%$). В 6 случаях ($3,0 \pm 1,2\%$) обнаруживался смешанный тип кровоснабжения печени («тип V»), при котором питание левой доли, в основном, происходило из собственно печеночной артерии, а II или II и III сегменты дополнительно кровоснабжались от левой желудочной артерии, правая доля – от ВБА. В 4 случаях ($2,0 \pm 0,9\%$) был определен тип, названный «тип 6А», не вошедший в использованную классификацию. Последний тип заключался в самостоятельном отхождении ППА от чревного ствола, при этом ЛПА отходила от общей печеночной артерии.

При изучении вариантов артериального притока к IV сегменту были выделены три основных типа его кровоснабжения – от левой долевой артерии ($69 \pm 3,3\%$ случаев) – тип I, от правой долевой артерии ($13,5 \pm 2,4\%$) – тип II и смешанный тип ($12,5 \pm 2,7\%$) – тип III, при котором кровоснабжение осуществлялось мелкими ветвями от двух долевыми артерий. К редким типам было отнесено кровоснабжение IV сегмента от СПА при делении последней на три ветви ($1,5 \pm 0,8\%$) – тип IV и автономное кровоснабжение IV сегмента посредством левой долевой артерии ($3,5 \pm 1,3\%$) – тип V.

При суммировании данных МСКТ по вариантам ветвления воротной вены (ВВ) были отмечены все группы патологоанатомической классификации Готье С.В., представленные 4 типами: бифуркация, трифуркация, транспозиция правых парамедианных вен, сочетание классической бифуркации с наличием мелких ветвей к I сегменту ($1,5 \pm 0,7\%$ случаев). Бифуркация ВВ была обнаружена у 173 доноров ($86,5 \pm 2,4\%$). Трифуркация ВВ встречалась в 10 случаях ($5,0 \pm 1,5\%$). Вариант транспозиции правых парамедианных вен был отмечен в 14 наблюдениях ($7,0 \pm 1,8\%$). Сочетание классической бифуркации с наличием мелких ветвей к I сегменту обнаружили у 3 человек ($1,5 \pm 0,7\%$).

При выборе плоскости разделения паренхимы с сохранением печеночных вен, ответственных за отток крови от будущего трансплантата, задачей МСКТ было изучение вариабельной анатомии печеночных вен.

На основании полученных данных были выделены три вида формирования кавального оттока печени. Раздельное впадение правой, срединной (СВП) и левой (ЛВП) печеночных вен в нижнюю полую вену (НПВ) наблюдалось у 100 доноров ($50,5 \pm 3,5\%$). Единое устье СВП и ЛВП было обнаружено в 60 случаях ($30,0 \pm 2,8\%$), а единый ствол СВП и ЛВП – в 40 наблюдениях ($20,5 \pm 2,8\%$).

В зависимости от планируемого для резекции фрагмента печени внимание уделялось выявлению дополнительных вен печени, самостоятельно впадающих в НПВ от правой и левой доли, которые могли пересекать плоскость разделения паренхимы. Наличие ветви от VIII сегмента печени в срединную вену наблюдалось у 53 человек ($9,5 \pm 2,1\%$). Дополнительная нижняя правая ветвь от V или VI сегментов правой доли встречалась у 34 человек ($17,0 \pm 2,7\%$). Ветвь от II сегмента печени, самостоятельно впадающая в НПВ, наблюдалась у 19 человек ($9,5 \pm 2,1\%$). У 12 пациентов было определено наличие дополнительной верхней правой печеночной вены ($6,0 \pm 1,7\%$).

Расчет объема печени и предполагаемого трансплантата показал, что общий объем печени находился в пределах 1000–2090 г, объем правой доли печени находился в пределах 540–1350 г, что составило 50,4–55,4% от объема всей печени. Объем левого латерального сектора находился в интервале от 140 до 400 г, что составило 13,0–26,8% от объема всей печени. В ряде случаев объем правой доли мог превосходить объем левой доли, и составлял 74% печеночной паренхимы, что являлось ограничением к проведению резекции правой доли в связи с высоким риском возникновения послеоперационных осложнений у донора в виде недостатка функционального объема печеночной паренхимы.

При проведении МРХГ, в том числе, с применением гадолиний содержащего препарата «Примовист», были определены: левый и правый долевые протоки, общий печеночный (ОПП), пузырный и общий желчный протоки. Вариант формирования общего желчного протока (ОЖП) из че-

тырех образующих компонентов был выявлен у 172 доноров ($80,0 \pm 4,5\%$) и принят за «классический». Помимо классического типа наблюдался ряд вариантов формирования общего печеночного протока из сегментарных ветвей. Впадение в конфлюэнс двух сегментарных протоков от правой доли было отмечено у 16 доноров ($86,0 \pm 2,4\%$) – тип II. Раздельное впадение протоков V или VI сегментов ниже конфлюэнс при «типе III» показано в 14 случаях ($7,0 \pm 1,8\%$), наличие ветви от IV сегмента, впадающей в зону конфлюэнс, у – 6 доноров ($3,0 \pm 1,2\%$), соответствующее «типу IV». Вариант слияния сегментарного протока IV сегмента с протоком III сегмента до его слияния с протоком II сегмента при «типе V», описанный в использованной классификации, в проведенном исследовании не определялся. В двух случаях ($1,0 \pm 1,0\%$) был определен вариант впадения задней аберрантной ветви правого печеночного протока в левый долевого проток («тип A3» по классификации T.L. Huang, Y.F. Cheng). Такой редко встречающийся в нашем исследовании вариант слияния сегментарных протоков был отнесен к «типу 6A».

В связи с тем, что линия резекции при проведении левой латеральной сектеротомии проходит по борозде серповидной связки, особый интерес представлял варианты формирования левого печеночного протока ($n = 114$). Основным топографическим ориентиром выступала серповидная связка. По полученным результатам были определены три варианта слияния протоков II и III сегментов. Слияние протоков II и III сегментов с образованием общего ствола происходило левее проекции серповидной связки у 85 доноров ($75,0 \pm 4,3\%$), на уровне ее проекции – у 11 ($9,0 \pm 2,8\%$) и правее – у 18 ($16,0 \pm 3,8\%$) доноров.

При изучении МР-холангиограмм ($n = 200$) были выделены виды впадения протока IV сегмента, влияющие на ход резекции печени. Проток IV сегмента сливался с протоком II сегмента вблизи конфлюэнс в 12 случаях ($6,0\%$), левее проекции серповидной связки в – 4 случаях ($2,0\%$), а также впадал в левый долевого проток на уровне серповидной связки в 5 случаях ($2,5\%$).

На момент проведения настоящего исследования 80 (40%) из 200 обследованных потенциальных доноров была проведена операция по забору фрагмента печени. Из них у 48 человек (60%) резекция была выполнена для получения в качестве трансплантата левого латерального сектора (ЛЛС), правой доли (ПД) – у 32 (40%) человек. В зависимости от антропометрических данных реципиента определялся способ резекции у донора. Интраоперационные данные включали себя сосудистую и билиарную анатомию, массу фрагмента печени полученного при операции.

При изучении интраоперационных данных и анализе хода операции по резекции фрагмента печени ($n = 32$) было определено, что у 21 (65,6%) из 32 доноров ПД печени единственным источником кровоснабжения

служила СПА (бассейн чревного ствола), что по данным МСКТ-артериографии соответствовало «типу I» и было выявлено у 20 из 32 доноров (62,5%). Отхождение ППА от общей печеночной артерии было выявлено в 6 случаях (18,8%), что соответствовало «типу II» при МСКТ и было отмечено у 7 человек (21,9%). Кровоснабжение правой доли отдельной ветвью от ВБА наблюдалось в 3 случаях (9,4%), что соответствовало «типу IV Б» при МСКТ и также было показано в 3 случаях. В 2 случаях (6,2%) выявлено отхождение ОПА от ВБА с последующим делением СПА на ЛПА и ППА – «тип IV А» по данным МСКТ.

У 48 доноров в качестве трансплантата был получен левый латеральный сектор (II и III сегменты). Было выявлено, что у 27 (56,2%) доноров ЛЛС основным источником кровоснабжения явилась СПА без наличия дополнительных притоков, что по данным МСКТ-артериографии соответствовало «типу I» и было выявлено у 27 человек (56,2%). Отхождение ЛПА от ОПА наблюдалось в 7 случаях (14,6%), что совпадало с данными МСКТ и соответствовало «типу II». У 10 доноров (20,8%) отмечалось наличие ветви от левой желудочной артерии – «тип III» при МСКТ (20,8%). В 1 случае (2,1%) был выявлен смешанный тип кровоснабжения печени («тип VI»). Также в 1 случае (2,1%) определялось отхождение ППА от чревного ствола (тип VI). Интраоперационно при латеральной сектеротомии в 2 случаях (4,2%) обнаруживалось наличие дополнительной артерии от ВБА к правой доле, что соответствовало «типу IV В» при МСКТ и также выявилось в 2 случаях (4,2%).

При сравнении протоколов выполненных манипуляций отмечено, что относительные значения данных МСКТ и операции были сопоставимы (рис. 1).

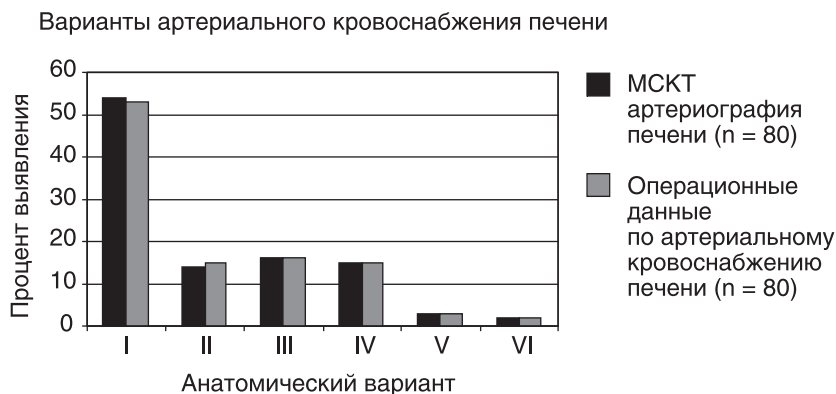


Рис. 1. Сравнительная диаграмма анатомического варианта кровоснабжения печени, полученная на основании данных МСКТ и интраоперационных данных

Основные источники кровоснабжения планируемого для резекции фрагмента печени были определены 98,2% случаев ($p > 0,05$). В одном случае интраоперационно было выявлено отсутствие собственно печеночной артерии, что описывалось как классический тип.

У 80 доноров производилась оценка кровоснабжения IV сегмента, которое осуществлялось за счет левой (L) доленой артерии у 51 человека ($63,8 \pm 5,4\%$). Участие правой (R) печеночной артерии в кровоснабжении IV сегмента было выявлено у 16 человек ($20,0 \pm 4,5\%$). Смешанный тип (LR) был определен у 8 человек ($10,0 \pm 3,4\%$). «Тип IV» был определен у 3 человек, «тип V» – у 2 человек, что совпадало данными МСКТ. Расхождения с интраоперационными данными отмечались только в трех наблюдениях: в 1 случае левосторонний тип был расценен как правосторонний, в 2 других случаях смешанный тип – как правосторонний (рис. 2).

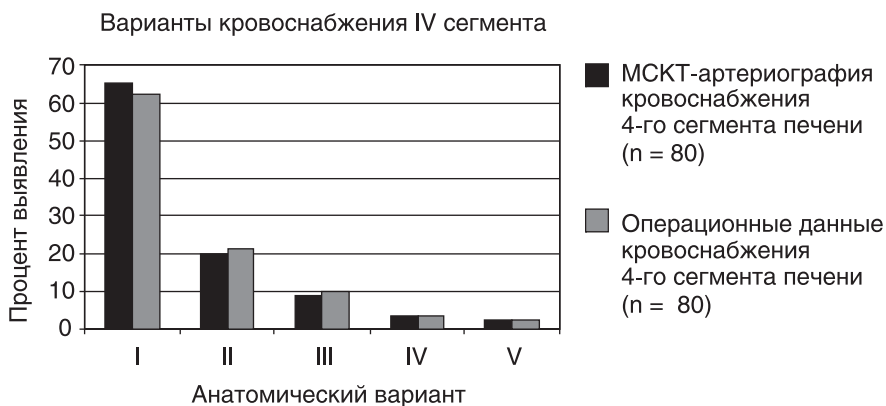


Рис. 2. Сравнительная диаграмма анатомического варианта кровоснабжения IV сегмента печени, полученная на основании данных МСКТ и интраоперационных данных

У 72 ($89,8 \pm 3,5$) из 80 прооперированных доноров фрагмента печени был выявлен «классический» тип ветвления воротной вены. У 2 доноров определялась трифуркация воротной вены ($3,0 \pm 2,4\%$). В 2 случаях был описан вариант трифуркация, который интраоперационно был расценен как «тип I», и заключался в близком отхождении к месту бифуркации ветви VI сегмента. Вариант транспозиции парамедианных вен встретился у 6 ($6,2 \pm 2,5\%$) доноров, при этом у 1 человека планировали для резекции правую долю печени, что могло потребовать использование дополнительной сосудистой вставки. Варианты портального кровоснабжения были определены в 98,7% случаев ($p \geq 0,05$). Рис. 3 показывает сравнение данных МСКТ и интраоперационных данных в выявлении варианта формирования воротной вены.

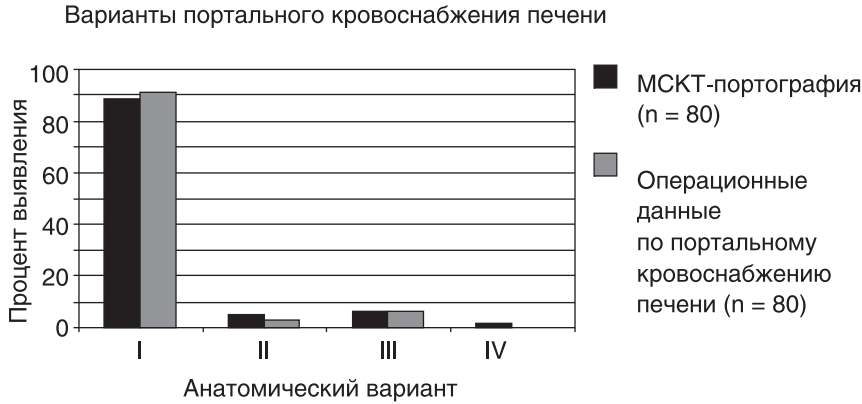


Рис. 3. Сравнительная диаграмма анатомического варианта портального кровоснабжения печени, полученная на основании данных МСКТ и интраоперационных данных

Данные о диагностической информативности МСКТ-ангиографии в определении вариантов артериального и портального кровоснабжения печени отражены в табл. 1 ($p \geq 0,05$).

Таблица 1

Диагностическая информативность МСКТ-артериографии, портографии

Показатели информативности метода	Артериальное кровоснабжение печени	Артериальное кровоснабжение IV сегмента			Вариант портального кровоснабжения печени
		Тип 1(L)	Тип 2(R)	Тип 3(LR)	
Чувствительность, %	98,2	97,5	98,7	98,5	96,7
Точность, %	98,2	97,5	98,7	98,5	96,7

У 32 (41,2%) из 80 доноров правой доли печени, которым была произведена резекция, был выявлен единственный ствол правой печеночной вены (ПВП), впадающий в НПВ, в том числе в 1 случае (3,0%) была определена дополнительная верхняя правая вена от VIII сегмента (диаметром более 5,0 мм), самостоятельно впадающая в НПВ, что в дальнейшем могло привести к формированию единого соустья. У 7 (21,9%) из 32 состоявшихся доноров правой доли печени было выявлено наличие ветви от VIII сегмента к срединной вене. Дополнительные нижние правые печеночные вены (диаметром более 5,0 мм) от V либо VI сегментов были определены у 7 (21,9%) доноров, что отражено в протоколе МСКТ. Ин-

траоперационно у 15 (46,9%) человек были определенные мелкие (диаметром менее 5,0 мм) дополнительные нижние правые печеночные вены, которые оказались гемодинамически незначимыми и перевязывались.

При определении видов формирования венозного оттока у 48 (42,1%) из 114 доноров левого латерального сектора было выделено три варианта: **I** – раздельное впадение СВП и ЛВП в НПВ у 27 (56,3%) из 48, **II** – СВП и ЛВП впадали в НПВ единым устьем у 11 (22,9%) из 48, **III** – СВП и ЛВП впадали в НПВ единым стволом у 10 (20,8%) из 48. У 13 (27,1%) из 48 доноров левого латерального сектора было отмечено наличие ветви от II сегмента, самостоятельно впадающей в НПВ. Слияние вен II и III сегментов вблизи НПВ было выявлено в 2 (4,2%) из 48 случаев. При сравнении с интраоперационными данными, несовпадения отмечались в 3 случаях (6,2%): в 2 на дооперационном этапе близкое расположение устьев СВП и ЛВП, было принято за единое соустье; в 1 случае единый короткий ствол СВП и ЛВП был принят за единое соустье.

Основные пути венозного оттока были определены в 96,3% случаев ($p \geq 0,05$). Сопоставление с интраоперационными данными отражено на рис. 4. Диагностическая информативность МСКТ в определении видов формирования основных и коммуникатных путей венозного оттока печени указаны в табл. 2.

Таблица 2

Диагностическая информативность МСКТ-венографии основных путей венозного оттока и дополнительных вен печени

Показатели информативности метода	Основные пути венозного оттока	Наличие дополнительных вен правой доли печени, левого латерального сектора			
		Наличие ветви от II сегмента	Наличие ветви от VIII сегмента в срединную вену	Наличие нижней правой вены от V или VI сегмента	Наличие дополнительной верхней правой вены
Чувствительность, %	96,3	95,8	87,5	96,9	98,8
Точность, %	96,3	95,8	87,5	96,9	98,9

Диагностическая информативность МРХГ ($n = 200$) оценивалась на основании данных протоколов операции у 80 (40%) состоявшихся доноров правой доли (32/80) и левого латерального сектора (48/80). Количество протоков на поверхности резецируемого фрагмента печени, а также данные интраоперационного УЗИ служили стандартами для дальнейшего сравнения с данными МРХГ. На рис. 5 представлено сравнение относительных значений по данным МРХГ и операционным данным, в выявлении вариантов формирования общего желчного протока.

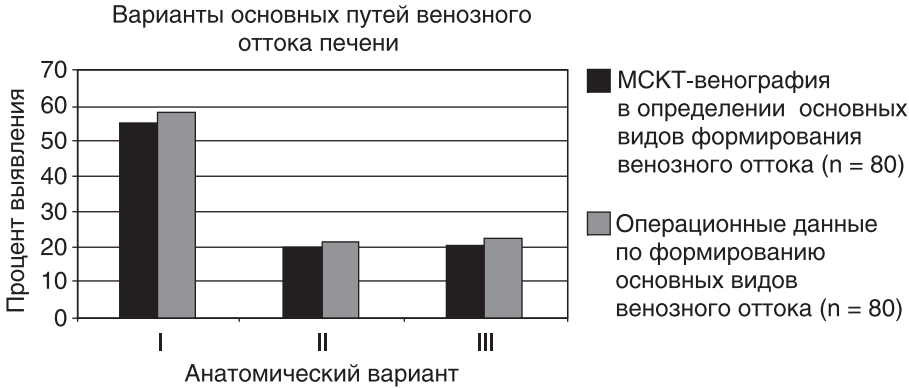


Рис. 4. Сравнительная диаграмма анатомического варианта венозного оттока печени, полученная на основании данных МСКТ и интраоперационных данных

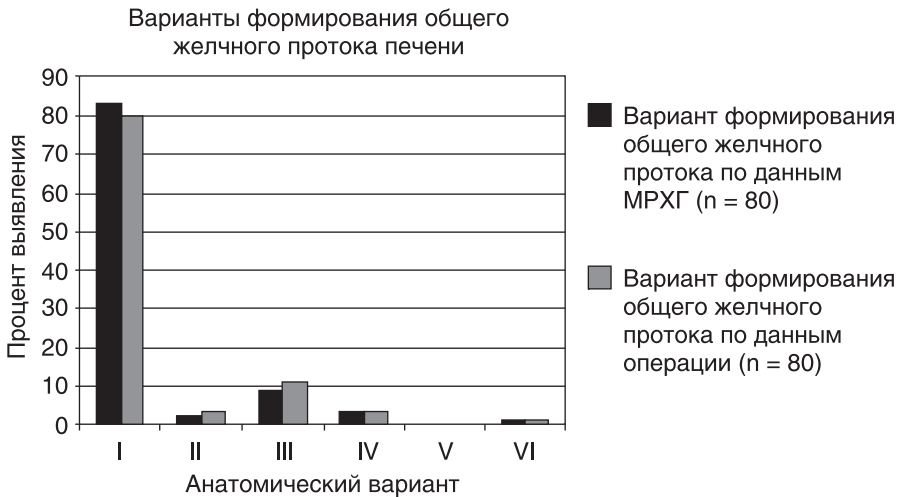


Рис. 5. Сравнительная диаграмма анатомического варианта билиарной анатомии печени, полученная на основании данных МРХГ и интраоперационных данных

При резекции правой доли печени «тип I», выявленный у 27 (84,4%) из 32 доноров по данным МРХГ, предполагал наличие одного устья правого печеночного протока, что подтвердилось интраоперационно у 26 (81,2%). В одном случае «тип II» был принят за «тип I» (3,0%), что объяснилось близкой параллельной выстилкой 2 правых сегментарных протоков. При «типе II» у 1 (3,0%) донора и «типе III» у 3 (9,3%) доноров определялись два сегментарных протока от правой доли. Впадение протока от IV сег-

мента в конfluence предполагалось при «типе IV» у 1 (3%) из 32. При «типе VI» у 1 (3%) донора интраоперационно определялось три устья, что объяснялось близким к конfluence формированию правого переднего протока из двух ветвей и впадением задней aberrантной ветви правого печеночного протока в левый долево́й проток. Три устья желчных протоков также обнаруживались при «типе II» (1 случай, 3%) и «типе III» (2 случая, 25%), что объяснялось близким к конfluence слиянием двух ветвей правого переднего желчного протока. Впадение протока IV сегмента в зону конfluence на дооперационном этапе определялось в 2 (6,25%) из 32 случаев, что подтвердилось интраоперационно.

На дооперационном этапе в аспекте использования в качестве трансплантата левого латерального сектора печени особое внимание уделялось вариантам формирования левого печеночного протока. Единое устье трансплантата левого латерального сектора получили при типе I, II и было определено у 34 (70,8%) из 48 доноров. Два устья трансплантата встретилось у 10 (20,8%) из 48 доноров при «типе III».

Точность и чувствительность МРХГ в определение вариантов формирования общего печеночного и левого печеночного протока печени отражены в табл. 3.

У 4 (8,3%) из 48 состоявшихся доноров левого латерального сектора на этапе резекции был получен трансплантат с тремя устьями желчных протоков, что объяснялось ранним впадением сегментарной ветви от IV сегмента в проток II сегмента левее серповидной связки (3/48), либо на уровень ее проекции (1/48). Описанные выше интраоперационные данные во всех случаях были отражены в протоколе МРХГ.

Таблица 3

**Диагностическая информативность МР-холангиографии
в определении варианта формирования общего печеночного
и левого печеночного протока**

Показатели информативности метода	Билиарная анатомия печени	Архитектоника формирования левого печеночного протока
Чувствительность, %	96,2	96,8
Точность, %	96,2	96,8

Объем трансплантата

При интраоперационном взвешивании фрагмента печени масса правой доли варьировалась от 540 до 1140 г, левого латерального сектора от 240 до 440 г.

При расчете объема трансплантата ($n = 80$) абсолютное совпадение с интраоперационными данными отмечалось у 3 (9,4%) доноров правой доли и у 7 (14,6%) – левого латерального сектора.

Из рис. 6 видно, что средние значения масс печени, полученные методом МСКТ-волюметрии и на основании операционных данных, сопоставимы.



Рис. 6. Сравнительная диаграмма средних значений объема (массы) фрагмента печени, полученного методом МСКТ и взвешенного интраоперационно

При сопоставлении данных МСКТ и интраоперационных данных (табл. 4), было определено, что средняя ошибка для правой доли составила $100 \pm 21,8$ г, для левого латерального сектора $32,2 \pm 5,3$ г ($p \geq 0,05$).

Таблица 4

Средние значения масс фрагмента печени, полученные по данным МСКТ и интраоперационно

Фрагменты печени	Среднее значение массы предполагаемого трансплантата по данным МСКТ, г	Среднее значение массы фрагмента печени, полученного при операции, г
Правая доля	$831,7 \pm 30,2$	$778,8 \pm 27,5$
Левый латеральный сектор	$276 \pm 41,3$	$300 \pm 41,8$

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ MIMICK 13,0

Для дополнительного анализа данных аксиальные изображения, полученные при проведении МСКТ, в формате «Dicom» обрабатывались с использованием программного обеспечения Mimick 13,0, что позволя-

ло строить виртуальные объекты области интереса и изучать на основании 3D-карт взаиморасположение сосудистых структур печени, а также визуально оценивать будущий фрагмент печени и производить подсчет объема будущего трансплантата. Примеры возможных реконструкций на аналоговой 3D-карте программы Mimick 13,0 продемонстрированы на рис. 7–9.



Рис. 7. Трехмерная модель печени взрослого человека во фронтальной проекции



Рис. 8. Трехмерная модель фрагмента печени в прямой проекции (правая доля)



Рис. 9. Трехмерная модель фрагмента печени (левый латеральный сектор)

На основании проведенного исследования можно говорить, что методы МСКТ и МРХГ являются высоко информативными в выявлении анатомических особенностей строения и кровоснабжения печени ее билиарной анатомии и зарекомендовали себя как методы выбора в обследовании потенциальных доноров при планировании родственной трансплантации фрагмента печени.

ВЫВОДЫ

1. Оптимальным методическим подходом к исследованию сосудистой ангиоархитектоники печени является МСКТ с болюсным внутривенным введением неионного контрастного препарата с использованием мультифазного протокола сканирования в нативную (задержка скан. – 4 с), артериальную (задержка скан. – 15–20 с), портальную (задержка скан. – 30–40 с), венозную фазу (задержка скан. – 50–60 с), с последующей трехмерной реконструкцией полученных данных. Оптимальной методикой МРХГ явилась программа T2 TSE 3D Rst-COR- 384-trig с использованием навигатора, исключающая движение диафрагмы.
2. МСКТ дает точные сведения о качественном состоянии паренхимы печени, позволяет определить количественные параметры объема всей печени и предполагаемого трансплантата. При сравнении данных МСКТ и операционных данных средняя ошибка в определении массы для правой доли составила $100 \pm 21,8$ г, для левого латерального сектора $32,2 \pm 5,3$ г ($p > 0,05$).
3. Сопоставление с операционными данными показало высокую чувствительность и точность МСКТ с болюсным контрастным усилением в первичной оценке ангиоархитектоники сосудов печени родственного донора: печеночных артерий – до 98,2%, анатомии портальной вены – 96,7%, основных путей венозного оттока – 96,3% и дополнительных вен печени – 96,9%.
4. Применение методики МРХГ в обнаружении вариантов формирования общего желчного протока у донора фрагмента печени в сравнении с операционными данными, показала высокую чувствительность и точность метода, достигающую 96,3%.
5. Применение 3D-реконструкций (VRT), а также программ трехмерной обработки изображений с учетом объемов, сосудистой и билиарной анатомии печени, позволяет планировать ход и возможность операции, определяя оптимальную плоскость резекции фрагмента печени.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. МСКТ с болюсным контрастированием и МРХГ должны быть обязательно включены в протокол обследования родственного донора фрагмента печени, как методы выбора в исследование сосудистой и билиарной анатомии.
2. В соответствии с полученными данными нами был разработан алгоритм обследования РДФП методами МСКТ и МРХГ:
 - а) проведение МСКТ с болюсным контрастным усилением (контрастный препарат в объеме 100–120 мл) в нативную, артериальную, портальную и венозную фазы сканирования, которое включает в себя

оценку органов брюшной полости и забрюшинного пространства, построение 3D-объектов области интереса, показывающих сосудистую анатомию печени (MIP, MPR, VRT), измерение диаметров приводящих и отводящих кровь сосудов печени, подсчет объема (массы), предполагаемого для резекции фрагмента печени;

- б) проведение МРХГ с применением программ T2 – TRUFI COR TRA bh, T2 haste COR thin oh, T2 tse 3D rst-COR- 384- trig, T1-f1-3D-ts, которое включает в себя построение на 3D-карте MIP, VRT реконструкций, измерение диаметров желчных протоков.

В дополнение к проведенному исследованию возможно использование программного обеспечения Mimick 13,0, с возможностью построения 3D моделей области интереса.

3. При изучении артериальной анатомии печени донора надо установить основные источники кровоснабжения печени, наличие дополнительных артериальных притоков к ней, определить вариант кровоснабжения IV сегмента. При оценке портального кровоснабжения печени следует оценить вариант деления основного ствола воротной вены. При исследовании кавального оттока важен вариант слияния срединной и левой печеночной вены, а также наличие дополнительных гемодинамически значимых вен печени (диаметром более 5,0 мм), влияющих на тактику проведения резекции ее фрагмента.
4. При подсчете объема (массы) трансплантата правой доли анатомическим ориентиром служит срединная вена, отступая от последней на 8–10 мм вправо. Анатомическим ориентиром при подсчете объема ЛЛС служит серповидная связка поскольку она определяет линию резекции при операции.
5. При анализе данных МРХГ по билиарной анатомии печени необходимо указать вариант формирования общего печеночного протока, определить наличие мелких сегментарных ветвей, самостоятельно впадающих от правой доли в общий печеночный проток ниже конfluence (область слияния правого и левого долевого протоков) либо в его область. Важной информацией является вариант формирования левого долевого протока, уровень впадения в него сегментарного протока от IV сегмента.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Уваров К.А., Муслимов Р.Ш., Абрамова Н.Н., Иванова О.П.* Мультиспиральная компьютерная томография и магнитно-резонансная томография в обследовании доноров при родственной трансплантации фрагмента печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2009. – Т. 11. – № 3. – С. 37–41.
2. *Абрамова Н.Н., Уваров К.А.* Магнитно-резонансная томография и мультиспиральная компьютерная томография при трансплантации печени // Вест-

ник трансплантологии и искусственных органов. – Т. XII. Сборник тезисов V Всероссийского съезда трансплантологов (2010) . – С. 117–118.

3. Шагидулин М.Ю., Гасанов Э.К., Любомудрова Е.В., Шмерко Н.П., Андриянова А.А., Абрамова Н.Н., **Уваров К.А.**, Муслимов Р.Ш., Ртищев А.С. «Алгоритм обследования животных перед проведением эксперимента» // Сборник тезисов V Всероссийского съезда трансплантологов. – 2010. – С. 340–341.
4. **Уваров К.А.**, Абрамова Н.Н. Комплексный подход к обследованию доноров методами мультиспиральной компьютерной и магнитно-резонансной томографии при планировании операции трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора // Хирург. – 2012. – Выпуск № 1. – С. 52–59.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБА	–	верхняя брыжеечная артерия
ВВ	–	воротная вена
ЛВП	–	левая вена печени
ЛПА	–	левая печеночная артерия
ЛЛС	–	левый латеральный сектор печени
МСКТ	–	мультиспиральная компьютерная томография
МРТ	–	магнитно-резонансная томография
МРХГ	–	магнитно-резонансная холангиография
ОПА	–	общая печеночная артерия
ОПП	–	общий печеночный проток
ОЖП	–	общий желчный проток
ПВП	–	правая вена печени
ППА	–	правая печеная артерия
ПД	–	правая доля печени
НПВ	–	нижняя полая вена
РДФП	–	родственный донор фрагмента печени
СВП	–	срединная вена печени
СПА	–	собственно печеночная артерия

Шкалова Любовь Владимировна

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПЕЧЕНИ У ПОСМЕРТНЫХ ДОНОРОВ И ИШЕМИЧЕСКОЕ КОНСЕРВАЦИОННО- РЕПЕРФУЗИОННОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

14.03.02 – патологическая анатомия

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва–2012

Работа выполнена в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Цирульникова Ольга Мартеновна

доктор медицинских наук,
профессор

Ильинский Игорь Михайлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В настоящее время трансплантация печени в России осуществляется в 11 трансплантологических центрах и составляет от 1 до 1,5 трансплантаций на 1 млн населения в 2009–2010 гг. (С.В. Готье, 2011). В то же время потребность в пересадке печени ежегодно возникает у 10–20 человек на 1 млн (Е.Б. Ярошенко с соавт., 2010). Очевидно, что столь низкие показатели выполняемых в год трансплантаций не удовлетворяют существующие потребности.

На пути расширения донорского пула при изъятии печени были пересмотрены допустимые критерии донора и приняты так называемые

расширенные критерии (С.В. Готье с соавт., 2008; Я.Г. Мойсюк с соавт., 2010; M. Gastaca, 2009; Н.М. Noujaim et al., 2009), включающие: возраст донора старше 50 лет, пребывание в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) более семи суток, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) как причина смерти, высокий уровень инотропной поддержки (дофамин более 15 мкг/кг/мин), патологическое ожирение (индекс массы тела более 30 кг/рост, м²), наличие вирусной и бактериальной инфекций, натрий сыворотки крови более 160 ммоль/л, время холдовой ишемии более 15 часов и гистологические признаки жирового гепатоза (более 50%). Использование «расширенных критериев» позволило увеличить количество выполняемых трансплантаций, однако привело к повышению риска операций из-за неудовлетворительного качества донорских органов (В.Е. Загайнов с соавт., 2009; М.Г. Минина с соавт., 2010; R.S. Mangus et al., 2010; J.C. Lai et al., 2011).

Данный факт определяет особое значение морфологической экспресс-диагностики печени потенциального посмертного донора, которая могла бы предоставить объективную информацию о состоянии органа в кратчайшие сроки (M.I. Minervini et al., 2009; J.H. Lefkowitz, 2010). Однако данных о патогистологических критериях при морфологическом определении пригодности печени для трансплантации в литературе не представлено.

В раннем послеоперационном периоде основной патологией, влияющей на начальную функцию трансплантированной печени, является ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение (ИКРП). Тяжелая степень ИКРП трансплантата сопровождается потерей его функции почти у 50% пациентов (С.В. Готье с соавт., 2008). На сегодняшний день ишемическое повреждение трансплантированной печени клинически оценивают в соответствии с разработанной шкалой выраженности цитолиза (О.М. Цирульников, 2004). В то же время вопросы морфологии ИКРП трансплантированной печени изучены не достаточно. Имеющиеся немногочисленные публикации по данной теме (Б.А. Константинов с соавт., 1996; Н.Н. Бабенко с соавт., 2004; М.М. Морозова с соавт., 2005; S.A. Geller, L.M. Petrovic, 2004; F. Kalantari et al., 2007) не однозначны в интерпретации и не содержат четких морфологических критериев ИКРП по степени тяжести, что предполагает дальнейшие исследования в данном направлении. Все эти вопросы определили цель и задачи данного исследования.

Цель исследования

Разработка патогистологических критериев оценки донорской печени и изучение морфологии ишемического консервационно-реперфузионного повреждения трансплантированной печени.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести сравнительный анализ основных клинико-лабораторных показателей у эффективных и неэффективных посмертных доноров печени.
2. Охарактеризовать морфологические изменения в биоптатах печени у эффективных и неэффективных посмертных доноров.
3. Оценить корреляционные связи между клиническими и морфологическими показателями у потенциальных посмертных доноров печени.
4. Изучить морфологические изменения в трансплантатах печени при ишемическом консервационно-реперфузионном повреждении.

Научная новизна исследования

Впервые в сравнительном аспекте изучены основные клинико-лабораторные показатели у эффективных (ЭД) и неэффективных (НД) посмертных доноров печени со смертью мозга.

Впервые изучены морфологические и иммуногистохимические изменения в печени у ЭД и НД; определены патогистологические критерии оценки донорской печени; и разработан протокол, позволяющий охарактеризовать имеющиеся изменения в баллах. Показана значимость экспресс-биопсии печени у потенциальных посмертных доноров при комплексной оценке пригодности органа для трансплантации.

Впервые разработаны морфологические критерии оценки различной степени тяжести ИКРП в трансплантированной печени.

Практическая ценность исследования

Комплексная оценка ряда клинико-лабораторных показателей (индекса массы тела; уровней АСТ, АЛТ, общего билирубина и натрия в сыворотке крови; дозы вазопрессоров, применяемой для инотропной поддержки; а также показателей ЦВД и систолического АД на момент собственно констатации смерти мозга) может быть использована в качестве объективного критерия при отборе потенциальных посмертных доноров печени.

При морфологическом определении пригодности донорской печени для трансплантации кроме стеатоза и фиброза могут быть использованы и другие значимые критерии (белковая дистрофия и некроз гепатоцитов; эндотелиит центральных вен, эндартериит, флебит и воспалительная инфильтрация в портальных трактах). При этом адекватная комплексная оценка пригодности органа для трансплантации не возможна без гистологического исследования экспресс-биоптата печени потенциального посмертного донора.

Морфологическая градация ИКРП трансплантированной печени с разделением его на три степени может применяться при гистологичес-

ком исследовании биоптатов печени в раннем посттрансплантационном периоде.

Положения, выносимые на защиту.

1. Эффективные и неэффективные потенциальные посмертные доноры печени достоверно различаются по ряду клинико-лабораторных показателей (индексу массы тела; уровню трансаминаз, общего билирубина и натрия в сыворотке крови; а также по дозе дофамина, используемой для инотропной поддержки).
2. Эффективные и неэффективные потенциальные посмертные доноры печени достоверно различаются по ряду морфологических показателей (стеатозу, белковой дистрофии и некрозу гепатоцитов; степени фиброза в печени; степени эндотелиита в центральных венах; степени эндартериита, флебита и воспалительной инфильтрации в портальных трактах).
3. Морфологическая оценка печени посмертного донора с использованием разработанного протокола позволяет оценить имеющиеся изменения в баллах и прогнозировать степень тяжести ишемического консервационно-реперфузионного повреждения в раннем посттрансплантационном периоде.
4. Морфологическое исследование экспресс-биоптатов печени потенциальных посмертных доноров предоставляет объективную информацию о состоянии органа, уточняет и дополняет данные визуальной оценки и ультразвукового исследования.
5. Разработанная морфологическая градация ишемического консервационно-реперфузионного повреждения трансплантированной печени по степени тяжести позволяет четко интерпретировать данную патологию в биоптатах раннего посттрансплантационного периода.

Реализация результатов исследования

Результаты исследования нашли клиническое применение в отделениях пересадки почки и печени, абдоминальной хирургии и трансплантации ФГБУ ФНЦТиИО МЗиСР РФ, а также в хирургическом отделении трансплантации органов ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России. Основные результаты исследования включены в программу обучения студентов старшего курса лечебного факультета кафедры «Трансплантология и искусственные органы» Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

Апробация работы

Материалы и основные положения работы были доложены и обсуждены на Всероссийской конференции «Трансплантация печени в России:

20 лет спустя» – Москва (2010), III Международной научно-практической конференции «Высокие технологии в медицине» – Нижний Новгород (2010), V Всероссийском Съезде по трансплантологии и искусственным органам – Москва (2010), совместной научно-практической конференции отделений и лабораторий «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ – 27.10.2011 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из общей характеристики работы, четырех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, две главы собственных исследований и их обсуждение), выводов, практических рекомендаций, указателя использованной литературы и трех приложений. Работа изложена на 146 страницах машинописи, иллюстрирована 13 таблицами и 60 рисунками. Список литературы включает 75 названий на русском и 151 на иностранных языках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал исследования

Проведено ретроспективное гистологическое исследование 35 биоптатов печени от потенциальных мультиорганных доноров со смертью мозга и 29 биоптатов трансплантированной печени в раннем послеоперационном периоде из ФГБУ «ФНЦТИО им. В.И. Шумакова» МЗиСР РФ, а также 25 экспресс-биоптатов печени от потенциальных мультиорганных доноров со смертью мозга из Приволжского координационного центра органного и тканевого донорства (ПКЦОД). Анализируемый период – с 2004-го по 2011 г.

Методы исследования

Оценка клинико-лабораторных показателей включает анализ данных паспорта трупной печени, материала историй болезни и индивидуальных карт реципиентов.

Гистологические методы. Образцы биоптатов ткани печени фиксировали в 10% забуференном формалине (pH 6,8–7), обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, заливали в парафиновые блоки, из которых готовили срезы толщиной 4 мкм с последующим окрашиванием

гематоксилином и эозином, трихромом по Массону с анилиновым синим и проведением PAS-реакции. В 25 наблюдениях (экспресс-биопсии печени потенциальных посмертных доноров из ПКЦОД) использовали замороженные гистологические срезы, полученные с помощью криостата Thermo scientific Microm HM 525.

Иммуногистохимический метод. Иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) проводили модифицированным непрямым иммунопероксидазным методом (А.П. Киясов, 2004) с восстановлением антигенной специфичности путем воздействия на ткань нагреванием на водяной бане. Для ИГХИ использовали моноклональные антитела: CD3 клон LN10 (Novocastra), CD20 клон L26 (Dako), CD15 клон MMA (Cell Marque) и CD68 клон Kp-1 (Cell Marque). Иммуногистохимически определяли клеточный состав воспалительного инфильтрата в портальных трактах и паренхиме печени у потенциальных посмертных доноров: Т- и В-лимфоциты – по экспрессии CD3 и CD20, полиморфно-ядерные лейкоциты (ПМЯЛ) – по экспрессии CD15, клетки Купфера – по экспрессии CD68.

Морфометрический метод. Подсчет количества гепатоцитов в состоянии стеатоза, белковой дистрофии, некроза и холестаза; количества Т- и В-лимфоцитов, ПМЯЛ и клеток Купфера в каждом биоптате печени потенциального посмертного донора проводили при помощи автоматизированной системы ImageScore M и микроскопа Leica DM 5000. Результат выражали в процентах.

Статистический метод. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью лицензионной программы «STATISTICA/W», программного обеспечения StatEx-2004.2, электронных таблиц Excel. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm \sigma$). Большинство исследуемых в работе показателей не отвечало требованиям нормального распределения, поэтому статистическую обработку проводили методами непараметрической статистики с использованием критериев Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. Корреляционные связи между признаками изучали при помощи критерия Пирсона (r). Достоверность различий оценивали по критерию p (статистически значимыми считали значения $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ПЕЧЕНИ У ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПОСМЕРТНЫХ ДОНОРОВ

(I группа)

Результаты исследования клинико-лабораторных показателей у посмертных доноров печени. Проведено исследование клинико-лабораторных показателей у 60 мультиорганных доноров со смертью мозга

(41 – мужчины, 19 – женщины) в возрасте от 19 до 69 лет (средний возраст $45,73 \pm 12,55$ года). Причиной смерти у 37 человек было острое нарушение мозгового кровообращения, у 23 – черепно-мозговая травма. Потенциальные посмертные доноры печени были разделены на две подгруппы: эффективные (ЭД) – 30 и неэффективные (НД) – 30. Подгруппы НД и ЭД сформированы с минимальными различиями ($p > 0,05$) по возрасту, полу и причине смерти. В проведенном исследовании длительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ) во всех наблюдениях совпадала с длительностью пребывания в ОРИТ и не превышала семи суток. При сравнении индекса массы тела (ИМТ) между подгруппами НД и ЭД получено статистически достоверное ($p < 0,001$) различие. ИМТ в подгруппе НД у трех (10%) соответствовал нормальным значениям (до $24,99 \text{ кг/м}^2$); у 27 (90%) отмечали ожирение различной степени: I степени (ИМТ $25\text{--}29,99 \text{ кг/м}^2$) – у 13 (43,3%), II степени (ИМТ $30\text{--}34,99 \text{ кг/м}^2$) – у 10 (33,3%), III степени (ИМТ 35 кг/м^2 и выше) – у четырех (13,4%). У восьми (26,7%) НД был алкогольный анамнез с выявлением маркеров алкогольного поражения печени при гистологическом исследовании. У ЭД самый высокий показатель ИМТ превысил верхнюю границу нормы на 32,4% и составил $33,1 \text{ кг/рост, м}^2$, не было ожирения III степени и алкогольного анамнеза.

При сравнении основных лабораторных показателей у НД по сравнению с ЭД выявлены достоверно выше уровни трансаминаз ($p < 0,001$), общего билирубина ($p = 0,006$) и натрия ($p = 0,009$) в сыворотке крови. При этом у НД в пяти (17%) наблюдениях АСТ и в двух (7%) АЛТ – превышали пять норм, в восьми (27%) – общий билирубин соответствовал трем нормам. У ЭД указанные показатели не выходили за рамки двух норм. У НД в 19 (63,3%) наблюдениях уровень натрия в сыворотке крови составил от 164 до 189 ммоль/л (в среднем $176,37 \pm 9,69$ ммоль/л), из них у десяти (34%) – был выше 180 ммоль/л (в среднем $184,8 \pm 3,26$ ммоль/л). У 11 (36,7%) НД уровень натрия в сыворотке крови не превышал 160 ммоль/л (в среднем $141,91 \pm 15,97$ ммоль/л). У ЭД в пяти (16,7%) наблюдениях уровень натрия в сыворотке крови составил от 163 до 171 ммоль/л (в среднем $166,6 \pm 4,04$ ммоль/л), у 25 (83,3%) – не превышал 160 ммоль/л (в среднем $146,24 \pm 7,61$ ммоль/л).

При сравнении основных показателей гемодинамики между НД и ЭД на момент начала процедуры констатации смерти мозга, совпадающей с разъединительным тестом, достоверных различий не отмечено ($p > 0,05$). У НД и ЭД в периоде кондиционирования применяли инотропную поддержку с использованием различных препаратов: в 36 (60%) наблюдениях – дофамином, в восьми (13,3%) – дофамином в комбинации с адреналином, в четырех (6,7%) – дофамином в комбинации с мезатоном. В 11 (18,3%) наблюдениях применяли только адреналин. У одного (1,7%) НД использовали комбинацию мезатона и адреналина на фоне травматического шока крайней степени тяжести. Для стабилизации состояния НД

потребовалось применить большую дозу вазопрессоров (дофамина) по сравнению с ЭД ($p = 0,006$). На момент собственно констатации смерти мозга, в результате проводимой терапии, состояние доноров в обеих исследуемых подгруппах удавалось стабилизировать; получены достоверные различия по показателям ЦВД ($p = 0,027$) и систолического АД ($p = 0,03$) между НД и ЭД.

Результаты гистологического исследования печени у потенциальных посмертных доноров. Проведено гистологическое исследование инцизионных биоптатов печени у 30 НД и 30 ЭД. Все биопсии были выполнены до перфузии (при сохраненном кровотоке). На основании собственного опыта был выбран блок морфологических параметров, включающий оценку: стеатоза, белковой дистрофии, некроза и холестаза гепатоцитов; степени флебита, эндартериита, воспалительной инфильтрации и фиброза стенок печеночных артерий в портальных трактах; степени эндотелиита в центральных венах; стадии фиброза в печени.

В подгруппе НД процент стеатоза, белковой дистрофии и некроза гепатоцитов были достоверно ($p < 0,001$) выше по сравнению с подгруппой ЭД. Стеатоз в печени у НД и ЭД всегда был смешанным (макро- и микровезикулярным) и в изолированной виде не наблюдался. Однако у НД прослеживали тенденцию к преобладанию макровезикулярного стеатоза. Белковая дистрофия гепатоцитов у ЭД в 28 (93%) наблюдениях была очаговой, в двух (7%) – диффузной; у НД в 21 (70%) наблюдении – диффузной вплоть до гидропической, в девяти (30%) – очаговой. Некроз гепатоцитов у ЭД отметили в 10 (33,3%) наблюдениях в виде единичных некротизированных клеток или моноцеллюлярных некрозов; у НД – в 24 (80%) биоптатах печени в виде моноцеллюлярных или центролобулярных некрозов. При сравнении холестаза между подгруппами НД и ЭД значимых различий не выявлено ($p = 0,9$).

Для характеристики в печени посмертных доноров ряда гистологических показателей (степени флебита, эндартериита, воспалительной инфильтрации и фиброза стенки печеночных артерий в портальных трактах; а также степени эндотелиита в центральных венах) была разработана морфологическая шкала, на основании которой указанные показатели были определены полуколичественно в баллах от 0 до 3 (отсутствие, легкий, умеренный, тяжелый). У НД по сравнению с ЭД достоверно выше были: степень воспалительной инфильтрации ($p < 0,001$), степень флебита и эндартериита в портальных трактах ($p = 0,03$); степень эндотелиита в центральных венах ($p = 0,026$). Фиброз стенки печеночных артерий в обеих исследуемых подгруппах доноров встречали редко; при статистической обработке результатов достоверных различий между НД и ЭД по данному показателю не выявлено ($p = 0,5$).

В обеих исследуемых подгруппах доноров выявили прямо пропорциональную зависимость: степени воспалительной инфильтрации в порталь-

ных трактах от степени флебита и эндартериита в портальных трактах (у НД $r = 0,5$; $p = 0,006$; у ЭД $r = 0,6$; $p < 0,001$); степени воспалительной инфильтрации в портальных трактах от степени эндотелиита в центральных венах (у НД $r = 0,54$; $p = 0,002$; у ЭД $r = 0,8$; $p < 0,001$).

Для оценки фиброза в биоптатах печени у ЭД и НД использовали систему METAVIR, так как она считается наиболее достоверной и воспроизводимой (Т.П. Некрасова, 2007). У НД стадия фиброза печени была достоверно ($p < 0,001$) выше по сравнению с ЭД.

Результаты иммуногистохимического исследования. В воспалительных инфильтратах портальных трактов доноров исследуемых подгрупп преобладали Т-лимфоциты, их количество у НД по сравнению с ЭД было статистически достоверно ($p < 0,001$) выше. В-лимфоциты в портальных трактах НД и ЭД встречали в виде единичных клеток. Количество ПМЯЛ в паренхиме печени ЭД и НД статистически значимо не различалось ($p = 0,5$). Количество клеток Купфера в паренхиме печени у НД было достоверно ($p < 0,001$) выше по сравнению с ЭД.

Протокол морфологической оценки печени посмертного донора создан на основании разработанных патогистологических критериев, выраженных в баллах; позволяет при комплексном суммировании баллов определить патологию донорской печени: сумма баллов от 0 до 10 – патология легкой степени, от 11 до 15 – умеренной и от 16 до 25 – тяжелой (табл. 1).

Таблица 1

**Протокол морфологической оценки печени
посмертного донора**

№ п/п	Морфологические признаки	Балл	Критерии
1	2	3	4
1	Стеатоз гепатоцитов (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	1-я степень (до 33%)
		2	2-я степень (до 66%)
		3	3-я степень (более 66%)
2	Белковая дистрофия гепатоцитов (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	Легкой степени (очаговая)
		2	Умеренной степени (очагово-диффузная)
		3	Тяжелой степени (диффузная гидропическая)
3	Некроз гепатоцитов (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	Единичные клетки
		2	Очаговый
		3	Обширный центролобулярный

Окончание таблицы 1

1	2	3	4
4	Эндотелиит центральных вен (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения вены)
		2	Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения вены)
		3	Некроз стенки центральной вены и/или трансмуральный эндотелиит
5	Фиброз портальных трактов (0–4 балла)	0	Отсутствует
		1	F1
		2	F2
		3	F3
		4	F4
6	Воспалительная инфильтрация в портальных трактах (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	Легкой степени (преимущественно лимфоцитарное воспаление в меньшей части триад)
		2	Умеренной степени (смешанный воспалительный инфильтрат из лимфоцитов, ПМЯЛ в большей части триад)
		3	Тяжелой степени (то же, что для умеренной степени, с вовлечение перипортальных зон)
7	Эндартериит в портальных трактах (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения артерии)
		2	Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения артерии)
		3	Некроз стенки печеночной артерии и/или трансмуральный эндартериит с некрозом стенки
8	Флебит в портальных трактах (0–3 балла)	0	Отсутствует
		1	Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения вены)
		2	Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения вены)
		3	Некроз стенки печеночной вены и/или трансмуральный флебит

Целью разработки протокола морфологической оценки печени посмертных доноров явилось не только создание единой схемы описания патологических изменений в биоптатах. Мы стремились к тому, чтобы критерии, получающие наивысший балл, обладали прогностической значимостью при использовании общего подхода, и чтобы протокол был достаточно гибким для будущих дополнений.

Анализ 16 наблюдений из ПКЦОД показал, что при трансплантации с патологией в донорской печени умеренной и тяжелой степени, у реципиентов в раннем посттрансплантационном периоде существует высокий риск развития умеренного и тяжелого ИКРП в трансплантате. При наличии у донора патологии легкой степени ($n = 3$) наблюдали легкое ИКРП; при патологии умеренной степени ($n = 11$) – у девяти реципиентов отмечали умеренное ИКРП, у двух – тяжелое ИКРП; при патологии тяжелой степени ($n = 2$) – тяжелое ИКРП. Во всех наблюдениях ($n = 16$): время холодовой ишемии составило $378,75 \pm 120,78$ мин.; ОТП была выполнена по методике piggy back; вено-венозный обход не применялся; время агепатического периода $57 \pm 3,74$ мин.; время тепловой ишемии $35 \pm 11,69$ мин.; появление желчи после пуска кровотока – во всех случаях; холедохо-холедохоанастомоз – во всех случаях; общее время операции $248,13 \pm 38,68$ мин; кровопотеря $965,63 \pm 471,42$ мл. Ранний послеоперационный период по клинико-лабораторным данным (без морфологического подтверждения результатами однокласовой биопсии) у всех реципиентов сопровождался развитием ИКРП различной степени.

В проведенном исследовании ($n = 16$) не выявлено статистически достоверной зависимости выраженности синдромов цитолиза и холестаза у реципиентов от уровней показателей трансаминаз, общего билирубина и натрия в сыворотке крови у ЭД ($r = 0,1-0,21$; $p > 0,05$). Однако, между лабораторными показателями реципиентов и морфологическими изменениями в печени ЭД, получены достоверно значимые прямые корреляции: уровень ЩФ ($r = 0,25$; $p < 0,001$) и общего билирубина ($r = 0,31$; $p < 0,001$) в сыворотке крови реципиентов статистически достоверно коррелировал с выраженностью холестаза в печени ЭД; уровень показателей АСТ, АЛТ, ЛДГ и γ -ГТП ($r = 0,64-0,67$; $p < 0,001$) у реципиентов – с инфильтрацией ПМЯЛ в печеночной дольке и стенках центральных вен у ЭД; умеренное ИКРП ($r = 0,62$; $p = 0,01$) у реципиентов – с легкой степенью воспалительной инфильтрации в портальных трактах печени у ЭД; тяжелое ИКРП ($r = 0,63$; $p = 0,02$) у реципиентов – с умеренной степенью воспалительной инфильтрации в портальных трактах печени у ЭД.

Результаты исследования корреляционных связей между клиническими и морфологическими показателями у потенциальных посмертных доноров печени. У НД выраженность стеатоза в печени прямо пропорционально зависела от ИМТ донора ($r = 0,9$; $p < 0,001$). Так как у ЭД значения ИМТ были приближены к норме, а стеатоз в печени не превышал 30%, взаимосвязь между стеатозом и ИМТ оказалась не достоверной ($r = 0,2$; $p = 0,3$).

Изучение в подгруппах НД и ЭД зависимости ряда других клинико-лабораторных показателей (уровня трансаминаз, общего билирубина и натрия в сыворотке крови; а также длительности ИВЛ) от выраженности морфологических изменений в печени (стеатоза, белковой дистрофии и

некроза гепатоцитов; степени выраженности воспалительных изменений в портальных трактах и стенках сосудов) показало статистически не достоверную взаимосвязь ($r = 0,1-0,2$; $p > 0,05$). Полученные результаты, вероятно, обусловлены тем, что морфологические изменения в печени приводят к развитию комплекса клиничко-лабораторных изменений, а не отдельно взятого клиничко-лабораторного показателя; а также небольшим количеством наблюдений.

По паспорту трупной печени у НД проанализированы причины отказа от трансплантатов. В семи (23,4%) наблюдениях причиной отказа послужило сочетание нестабильной гемодинамики, гипернатриемии и возраста донора старше 60 лет с необходимостью применения высоких доз вазопрессоров и неудовлетворительной визуальной оценкой трансплантата. Указанные факторы многие исследователи (M. Ravaioli et al., 2009; G.A. Franklin et al., 2010) рассматривают в качестве неблагоприятных для выживаемости трансплантата. В одном (3,2%) наблюдении диагностирована почечно-клеточная карцинома; в двух (6,7%) – гепатит С, что является противопоказанием для трансплантации (Р. Розенталь, 2005). Однако в 20 (66,7%) наблюдениях в качестве причины отказа от трансплантатов печени указывалась неудовлетворительная оценка органа по данным визуального осмотра и ультразвукового исследования (УЗИ).

В 25 наблюдениях из ПКЦОД выполняли экспресс-биопсию органа до перфузии; гистологическое заключение выдавали в течение 20 мин. с момента поступления материала в патологоанатомическое отделение; сопоставляли с данными визуальной оценки и УЗИ печени; учитывали в принятии решения о пригодности органа для трансплантации. У трех (12%) доноров по данным УЗИ определили резко повышенную эхогенность печени и не рекомендовали органы для трансплантации. Однако при гистологическом исследовании экспресс-биоптатов печени патология у данных доноров соответствовала умеренной степени (11–12 баллов) с очагово-диффузной белковой дистрофией и стеатозом до 20%. По результатам экспресс-биопсий органы были определены как пригодные для трансплантации.

Заключение

Подгруппы НД и ЭД статистически достоверно ($p < 0,05$) различались по ряду клиничко-лабораторных (ИМТ; уровню трансаминаз, общего билирубина и натрия в сыворотке крови; дозе дофамина, используемой для инотропной поддержки, показателям систолического АД и ЦВД на момент собственно констатации смерти мозга) и морфологических (стеатозу, белковой дистрофии и некрозу гепатоцитов; фиброзу в печени; эндотелииту в центральных венах; эндартерииту, флебиту и воспалительной инфильтрации в портальных трактах) показателей. ЭД в отличие от НД по всем параметрам находились в рамках установленных «расширен-

ных критериев». Морфологическое и ИГХИ исследования показали, что у доноров обеих исследуемых подгрупп в печени имелись хронические воспалительные изменения, что может быть связано с перенесенным в течение жизни субклиническим неспецифическим гепатитом, реакцией на лекарственные препараты, аллергены и т. д. В то же время, в печени у НД, по сравнению с ЭД, отмечалась более высокая воспалительная активность ($p < 0,001$). Определены статистически значимые патогистологические критерии для оценки печени посмертного донора и разработан протокол, позволяющий не только определить патологию донорской печени в баллах, но и с высокой долей вероятности прогнозировать степень тяжести ИКРП в раннем посттрансплантационном периоде. У НД установлена достоверная корреляционная связь ($r = 0,86$; $p < 0,001$) между ИМТ и стеатозом в печени, что предполагает использовать показатель ИМТ донора для прогнозирования выраженности стеатоза в печени при комплексной оценке пригодности органа для трансплантации. Морфологическое исследование экспресс-биоптатов печени у ЭД и НД показало, что предоставляемая информация о состоянии органа является объективной, уточняет и дополняет данные визуальной оценки и УЗИ.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО КОНСЕРВАЦИОННО-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ

(II группа)

Проведено гистологическое исследование 29 биоптатов трансплантированной печени от 26 реципиентов в возрасте от 27 до 62 лет (средний возраст $43,33 \pm 1,84$ года; 14 – мужчин, 12 – женщин). Среди исследованных биопсий одночасовые составили 22 (76%); биопсии, взятые на вторые и третьи сутки после операции – три (10,3%); на седьмые – три (10,3%); на 11 – одна (3,4%). У 23 реципиентов биопсия бралась один раз; у трех – два раза.

При морфологическом исследовании биоптатов трансплантированной печени во всех наблюдениях отмечали микроциркуляторные нарушения, дистрофию и некроз гепатоцитов, признаки вакуолизации цитоплазмы и ядер гепатоцитов, неравномерное распределение гликогена в цитоплазме гепатоцитов. Повреждение в большей степени касалось перивенулярных зон ацинусов печени.

В зависимости от выраженности морфологических изменений, биоптаты были распределены по гистологическому диагнозу: ИКРП легкой степени – 10 (34,5%), умеренной – 10 (34,5%), тяжелой – девять (31%).

Биоптаты с ИКРП легкой степени ($n = 10$) были получены через один час и на седьмые сутки после операции (протокольная биопсия); ранний послеоперационный период протекал гладко; устойчивую тенденцию к нормализации цитолитических ферментов отмечали к 14 суткам после ОТП. Морфологические изменения были незначительными и, преимущественно, выражались в виде нарушений в микроциркуляторном русле.

Биоптаты с ИКРП умеренной степени ($n = 10$) были получены через один час и на 11-е сутки после операции; в раннем послеоперационном периоде с первых суток во всех наблюдениях отмечали дисфункцию трансплантата, что потребовало у трех реципиентов проведения нескольких сеансов молекулярной адсорбирующей рециркулирующей системы (МАРС-терапия) для лечения печеночной недостаточности, у одного – нескольких сеансов гемодиализации с целью купирования почечной недостаточности; устойчивую тенденцию к нормализации цитолитических ферментов у девяти реципиентов этой подгруппы отмечали к 15–20 суткам после ОТП. Умерла одна пациентка на 20 сутки после ретрансплантации. Причиной смерти послужило развитие тяжелого инфекционного поражения сочетанного генеза (бактериальное, вирусное и грибковое) на фоне тяжелой дисфункции двух трансплантатов (больной была выполнена ретрансплантация на 20-е сутки) в условиях массивной иммуносупрессии. Гистологически, в отличие от ИКРП легкой степени, белковая дистрофия приобретала характер гидропической, макро- и микровезикулярный стеатоз наблюдали во всех зонах ацинусов, отмечали моноцеллюлярные некрозы гепатоцитов, умеренно выраженную лимфоцитарную и нейтрофильную инфильтрацию, умеренный и тяжелый центральный эндотелиит.

Биоптаты с ИКРП тяжелой степени ($n = 9$) были получены через один час, на вторые, третьи и седьмые сутки после операции; в раннем послеоперационном периоде во всех наблюдениях с первых суток отмечали дисфункцию трансплантата, что потребовало медикаментозной коррекции. Устойчивую тенденцию к нормализации цитолитических ферментов у восьми реципиентов этой подгруппы отмечали к 15–34 суткам после ОТП. Умерла одна больная на 30-е сутки после операции. Причиной смерти послужило развитие развернутого синдрома полиорганной недостаточности (энцефалопатия, острая сердечно-сосудистая недостаточность, острая печеночно-почечная недостаточность, коагулопатия), нижнедолевой правосторонней пневмонии и инфекционно-токсического шока на фоне тяжелой дисфункции трансплантата печени. Морфологические изменения при ИКРП тяжелой степени характеризовались: дисконфлексацией печеночных балок, диффузной гидропической дистрофией гепатоцитов, отеком и кровоизлияниями в паренхиме печени, очаговым и диффузным макровезикулярным стеатозом во всех зонах ацинусов, моноцеллюлярными и центролобулярными некрозами гепатоцитов, диффузным расши-

рением пространств Диссе с полнокровием синусоидов, диффузной инфильтрацией ПМЯЛ в портальных трактах и паренхиме печени; тяжелым центральным эндотелиитом.

Данные по времени холодовой и тепловой ишемии, а также агепатического периода в ходе ОТП у реципиентов с различной степенью ИКРП представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Продолжительность холодовой и тепловой ишемии;
агепатического периода в ходе ортотопической трансплантации
печени у реципиентов с различной степенью ишемического
консервационно-реперфузионного повреждения ($M \pm \sigma$)**

Показатели, мин	Ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение		
	Легкая степень (n = 10)	Умеренная степень (n = 10)	Тяжелая степень (n = 9)
Холодовая ишемия	416,6 ± 52,96 430,0 [330 – 470]	504,8 ± 95,14 537,0 [388–630]	439,44 ± 48,25 460,0 [330–475]
Тепловая ишемия	45,6 ± 7,79 45,0 [36–57]	42,5 ± 2,55 42,0 [40–48]	45,67 ± 5,29 44,0 [40–55]
Агепатический период	53,4 ± 12,43 52,0 [40–70]	57,8 ± 2,2 58,0 [55–60]	82,67 ± 17,85 78,0 [75–130]

На момент взятия биопсии у всех реципиентов исследуемой группы отмечали повышение активности АСТ, АЛТ и ЛДГ в сыворотке крови (табл. 3).

Таблица 3

**Показатели АСТ, АЛТ, ЛДГ при различной степени ишемического
консервационно-реперфузионного повреждения трансплантата
печени ($M \pm \sigma$)**

Ферменты	Ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение		
	Легкая степень (n = 10)	Умеренная степень (n = 10)	Тяжелая степень (n = 9)
АСТ, Ед/л	842,4 ± 74,44	2651,2 ± 223,06	4890,33 ± 1214,31
АЛТ, Ед/л	508,3 ± 126,83	1171,14 ± 246,22	2012,22 ± 691,96
ЛДГ, Ед/л	854,25 ± 69,07	3507,4 ± 503,22	8952,14 ± 1364,09

Различия по показателям АСТ, АЛТ и ЛДГ между подгруппами с различной степенью ИКРП (легкой / умеренной, легкой / тяжелой и умеренной / тяжелой) статистически достоверные ($p \leq 0,01$). Выраженность цитолитического синдрома оказалась прямо пропорциональной степени ИКРП трансплантата печени, что соответствует данным литературы (О.М. Цирульников, 2004; С.В. Готье с соавт., 2008) и подтверждает про-

демонстрированные выше результаты морфологического исследования. Установлена достоверная прямая корреляционная связь повышения активности АСТ ($r = 0,93$; $p < 0,001$), АЛТ ($r = 0,84$; $p < 0,001$) и ЛДГ ($r = 0,95$; $p < 0,001$) от глубины повреждения органа.

В результате проведенного исследования были разработаны морфологические критерии легкого, умеренного и тяжелого ИКРП (табл. 4).

Таблица 4

Морфологические критерии легкой, умеренной и тяжелой степени ишемического консервационно-реперфузионного повреждения трансплантированной печени

Лабораторно-морфологические критерии	Легкая степень	Умеренная степень	Тяжелая степень
АСТ, Ед/л	до 1000	свыше 1000 до 3000	более 3000
АЛТ, Ед/л	до 1000	свыше 1000 до 3000	более 3000
Структура печени	не изменена	дискомплексация печеночных балок (+)	дискомплексация печеночных балок (++ и +++)
Белковая дистрофия	очаговая и диффузная (+)	диффузная, до очаговой гидропической (++)	диффузная гидропическая (+++)
Жировая дистрофия	очаговая, преимущественно микровезикулярная в 1-й зоне ацинусов	очаговая и диффузная, микро- и макровезикулярная во всех зонах ацинусов	диффузная, преимущественно макровезикулярная во всех зонах ацинусов
Отек паренхимы	+	++	++ и +++
Кровоизлияния	+	++	++ и +++
Некрозы	единичные клетки (+)	моноцеллюлярные (++)	моноцеллюлярные (++) и центроlobулярные (+++)
Центральный эндотелиит	+и++	++ и +++	+++
Инфильтрация порталных трактов	Лимфоциты, единичные ПМЯЛ. Воспалительная инфильтрация охватывает меньшую часть триад (+)	Лимфоциты и ПМЯЛ. Воспалительная инфильтрация охватывает большую часть триад (++)	Лимфоциты и ПМЯЛ. Воспалительная инфильтрация охватывает большую часть триад и переходит на перипортальную паренхиму (+++)
Инфильтрация паренхимы	очаговая, ПМЯЛ (+)	очагово-диффузная, ПМЯЛ (++)	диффузная, ПМЯЛ (+++)
+ легкий, ++ умеренный, +++ тяжелый			

Заключение

Независимо от выраженности ИКРП морфологические изменения в трансплантатах печени были однотипными и имели характер острого альтеративно-экссудативного воспалительного процесса, что свидетельствует о неспецифическом характере ответа на гипоксию. ИКРП легкой степени не влияло на раннюю функцию и прогноз выживания трансплантата печени, умеренное и тяжелое – всегда сопровождалось обширными некрозами и нейтрофильной инфильтрацией и приводило к выраженной дисфункции органа. Установлено, что наиболее значимыми лабораторными показателями у реципиентов, отражающими тяжесть ИКРП, являются АСТ, АЛТ и ЛДГ. В результате проведенного исследования разработаны морфологические критерии легкого, умеренного и тяжелого ИКРП трансплантированной печени, которые позволяют практическому морфологу четко интерпретировать данную патологию в материале биоптатов раннего посттрансплантационного периода.

ВЫВОДЫ

1. У неэффективных по сравнению с эффективными потенциальными посмертными донорами печени статистически достоверно выше были следующие клинико-лабораторные показатели: индекс массы тела ($p < 0,001$); уровень трансаминаз ($p < 0,001$), общего билирубина ($p = 0,006$) и натрия ($p = 0,009$) в сыворотке крови; доза дофамина ($p = 0,006$), используемая для инотропной поддержки; показатели систолического артериального давления ($p = 0,03$) и центрального венозного давления ($p = 0,027$) на момент собственно констатации смерти мозга.
2. У неэффективных по сравнению с эффективными потенциальными посмертными донорами печени статистически достоверно выше были следующие морфологические показатели: стеатоз ($p < 0,001$), белковая дистрофия ($p < 0,001$) и некроз ($p < 0,001$) гепатоцитов; фиброз в печени ($p < 0,005$); эндотелиит в центральных венах ($p = 0,026$); эндартериит ($p = 0,029$), флебит ($p = 0,029$) и воспалительная инфильтрация в портальных трактах ($p < 0,001$).
3. У неэффективных посмертных доноров печени установлена статистически достоверная корреляционная связь ($r = 0,86$; $p < 0,001$) между индексом массы тела и стеатозом в печени. Поэтому показатель индекса массы тела донора может использоваться для прогнозирования выраженности стеатоза в печени при комплексной оценке пригодности органа для трансплантации. Морфологическое исследование экспресс-биоптатов печени у потенциальных посмертных доноров предоставляет объективную информацию о состоянии органа, уточняет и дополняет данные визуальной оценки и ультразвукового исследования.

4. Независимо от тяжести ишемического консервационно-реперфузионного повреждения трансплантированной печени морфологические изменения в ней по своему проявлению являются однотипными, что свидетельствует о неспецифическом характере ответа на гипоксию, и проявляются нарушением микроциркуляции, дистрофическими и некротическими, а также воспалительными изменениями в печени. Ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение легкой степени не влияет на раннюю функцию и прогноз выживания трансплантата. Умеренное и тяжелое ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение трансплантированной печени всегда сопровождается некрозами, нейтрофильной инфильтрацией и приводит к выраженной дисфункции органа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется выполнять экспресс-биопсию печени потенциального посмертного донора с целью морфологической верификации состояния органа. Результаты морфологического исследования следует учитывать при комплексной оценке пригодности донорской печени для трансплантации.
2. При направлении биоптата донорской печени на гистологическое исследование рекомендуется предоставлять клиничко-лабораторные данные по донору, отраженные в разработанном бланке направления. Сопоставление указанных данных с морфологическими изменениями в биоптате необходимо для правильной интерпретации выявленной патологии.
3. Гистологическое исследование биоптата печени потенциального посмертного донора рекомендуется проводить по протоколу морфологической оценки печени посмертного донора. При комплексном суммировании баллов определять патологию донорской печени: сумма от 0 до 10 – патология легкой степени, от 11 до 15 – умеренной и от 16 до 25 – тяжелой.
4. Для оценки степени тяжести ишемического консервационно-реперфузионного повреждения трансплантированной печени в раннем послеоперационном периоде практическому морфологу рекомендуется использовать как лабораторные данные (АСТ, АЛТ, ЛДГ), так и разработанные морфологические критерии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Шкалова Л.В., Минина М.Г., Можейко Н.П., Куренкова Л.Г., Ильинский И.М., Погребниченко И.В., Мойсюк Я.Г., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Морфология кадаверной донорской печени. Материалы конференции «Транспланта-

- ция печени в России: 20 лет спустя» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII. – № 2. – С. 24–25.
2. **Ильинский И.М., Шкалова Л.В., Минина М.Г., Можейко Н.П., Куренкова Л.Г., Аммосов А.А., Мойсюк Я.Г., Цирульникова О.М., Готье С.В.** Морфология печени у потенциальных живых доноров сегмента печени. Материалы конференции «Трансплантация печени в России: 20 лет спустя» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII. – № 2. – С. 26–27.
 3. **Шкалова Л.В., Минина М.Г., Ильинский И.М., Мойсюк Я.Г., Цирульникова О.М., Готье С.В.** Ишемическое повреждение в биоптатах аллотрансплантированной печени // Мат. III Международной научно-практической конференции «Высокие технологии в медицине». Современные технологии в медицине. – 2010. – № 1. – С. 20–21.
 4. **Iljinsky I., Mogeiko N., Kurenkova L., Schkalova L., Minina M., Ammosov A., Moysyuk Y., Tsirulnikova O., Gautier S.** Liver morphology of potential live donors of segments of liver // XXIII International Congress of The Transplantation Society. – Vancouver, Canada. – 15–19.08.2010. – P36.05
 5. **Шкалова Л.В., Минина М.Г., Можейко Н.П., Ильинский И.М., Мойсюк Я.Г., Цирульникова О.М., Готье С.В.** Морфология ишемического повреждения аллотрансплантированной печени по данным исследования пункционных биоптатов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12. – № 3. – С. 16–23.
 6. **Шкалова Л.В., Ильинский И. М., Цирульникова О.М.** Морфология ишемического повреждения аллотрансплантированной печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12. – № 3. – С. 106–111.
 7. **Шкалова Л.В., Загайнов В.Е., Васенин С.А., Минина М.Г., Ильинский И.М., Цирульникова О.М.** Патоморфологические критерии оценки состояния печени у потенциальных мультиорганных доноров со смертью мозга // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 4. – С. 7–13.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	–	артериальное давление
АЛТ	–	аланинаминотрансфераза
АСТ	–	аспартатаминотрансфераза
Г-ГТП	–	гаммаглутамил-транспептидаза
ИВЛ	–	искусственная вентиляция легких
ИГХИ	–	иммуногистохимическое исследование
ИМТ	–	индекс массы тела
ИКРП	–	ишемическое консервационно-реперфузионное повреждение
ЛДГ	–	лактатдегидрогеназа
НД	–	неэффективный посмертный донор печени
ОНМК	–	острое нарушение мозгового кровообращения
ОРИТ	–	отделение реанимации и интенсивной терапии
ОТП	–	ортотопическая трансплантация печени

ПКЦОД	– Приволжский координационный центр органного и тканевого донорства
ПМЯЛ	– полиморфно-ядерные лейкоциты
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ЦВД	– центральное венозное давление
ЧМТ	– черепно-мозговая травма
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭД	– эффективный посмертный донор печени

**VIII. УКАЗАТЕЛЬ РАБОТ
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ
В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ
В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ
В 2012 г.**

1. **Chernyavskiy A.M., Marchenko A.V., Lomivorotov V.V., Doronin D., Alsov S.A., Nesmachnyy A.** Left Ventricular Assist Device Implantation // *Texas Heart Institute Journal*. – 2012. – Vol. 39. – № 5. – P. 627–629.
2. **Babenko N., Kaabak M., Zokoyev A., Morozova M., Samsonov D., Platova E., Vinnitsky L., Salimov E.** Steroid Resistant Acute Rejection after Campath Induction // *Treatment and Outcome // Transplantation*. 27 November. – 2012. – Vol. 94. – P. 1037.
3. **Efimov A.E., Gnaegi H., Schaller R., Grogger W., Hofer F., Matsko N.B.** Analysis of native structure of soft materials by cryo scanning probe tomography, *Soft Matter*, 2012, 8, 9756–9760, DOI:10.1039/c2sm26050f.
4. **Gautier S., Shevchenko O., Tsirulnikova O., Kurabekova R., Lugovskaya S., Naumova E., Gichkun O., Tsirulnikova I.** Concentration of CD34/CD45 positive cells in peripheral blood of pediatric patients before and after living donor liver transplantation // *Transplantation*. 27 November. – 2012. – Vol. 94. – P. 1202.
5. **Itkin G., Nevzorov A., Shemakin S., Shokhina E.** Our experience in the development of an implantable axial pump. – *ASAIO Journal*. – 2012. – T. 58. – Вып. 4. – С. 375.
6. **Kaabak M., Babenko N., Samsonov D., Sandrikov V., Zokoyev A.** Alemtuzumab Induction in Pediatric Kidney // *Transplantation*. 27 November. – 2012. – Vol. 94. – P. 74.
7. **Kim I., Stolyarevich E., Tomilina N.** Long-Term Results of Kidney Transplantation: Comparison of Combined Immunosuppression Based on Cyclosporine or Tacrolimus // *Transplantation*. 27 November. – 2012. – Vol. 94. – P. 854.
8. **Kolotova E., Egorova S., Ramonova A., Bogorodski S., Popov V., Agapov I., Kirpichnikov M.** Cytotoxic and immunochemical properties of viscumin encapsulated in polylactide microparticles. – *Acta naturae*. – 2012. – T. 4. – №1 (12). – С. 101–106.
9. **Lashkov A., Sotnichenko S., Prokofiev I., Gabdulkhakov A., Agapov I., Shtil A., Betzel Ch., Mironov A., Mikhailov A.** X-ray structure of Salmonella typhimurium uridine phosphorylase complexed with 5-fluorouracil and molecular modelling of the complex of 5-fluorouracil with uridine phosphorylase from *Vibrio cholerae*. – *Acta Crystallographica Section D*. – 2012. – T. 68.. – Вып. 8. – С. 968–974.
10. **Lyundup A., Deev R., Krashennnikov M., Avramov P., Shagidulin M., Burlutsky Y., Onishchenko N.** Correction of liver fibrosis by bone marrow mesenchymal stromal cells (MSCs) // *Abstract book of MISOT 4 th Expert Meeting*. – 2012. – P. 21.
11. **Mochalov K., Bobrovsky A., Oleinikov V., Sukhanova A., Efimov A., Shibaev V., Nabiev I.** Novel cholesteric materials doped with CdSe/ZnS quantum dots with photo- and electro-tunable circularly polarized emission. – *Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers*. – 2012, crp. 847501–1 –847501-9.
12. **Moisenovich M.M., Pustovalova O., Shackelford J., Vasiljeva T.V., Druzhinina T.V., Kamenchuk Y.A., Guzeev V.V., Sokolova O.S., Bogush V.G., Debafov V.G., Kirpichnikov M.P., Agapov I.I.** Tissue regeneration in vivo within recombinant spidroin 1 scaffolds. *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33 (15). – P. 3887–3898.

13. **Nikolskaja A., Onischenko N., Suskov S., Suskova V., Gabrieljan N., Shagidulin M.** The using of autological bone marrow cells for prophylaxis of immunodepended complications in cardiosurgical patients. – Abstract book of MISOT 4 th Expert Meeting. – 2012. – С. 19.
14. **Onishchenko N.A., Rasulov M.F., Dyubaylo Y.V.** Using stem cells in tracheobronchial surgery. International Conference: Instabilities and Control of Excitable Networks: from macro-to nano-systems. Book of Abstracts. 25–30 May, 2012. – Dolgoprudny, Russia. – P. 59–60.
15. **Poptsov V., Spirina E., Pchelnikov V., Ilin D., Potapenko I., Ilinskiy V.** Perioperative period following heart transplantation with left ventricular wall thickness 1,5 cm or more. – Abstract book of EACTA 2012. – 2012. – С. 178.
16. **Poptsov V., Spirina E., Uchrenkov S., Potapenko I., Pchelnikov V., Ilinskiy V.** Early extubation in the operating room after heart transplantation. – Abstract book of EACTA 2012. – 2012. – С. 178–179.
17. **Sergeevicheva, Kruchkova I., Chernykh E., Shevela E., Kulagin A., Gilevich A., Lisukov I., Sergeevichev D., Kozlov V.** Rapid Recovery from Chronic PRCA by MSC Infusion in Patient after Major ABO-Mismatched alloSCT // Case Reports in Medicine. – Vol. 2012. – Article ID 862721.
18. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Bashkina L., Nikolskaya A., Iljinsky I., Mogeiko N., Avramov P., Saburina I., Pulin A., Gorkun A., Perova N., Sevastjanov V. and Gautier S.** Liver tissue structures, formed de novo after transplantation of cell-biounits, provide treatment and regeneration of damaged liver //European Surgery. ACA -2012. –Vol. 44 supplement 246. – P. 14.
19. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Bashkina L., Nicolskaya A., Lundup A., Iljinsky I., Mogeiko N., Avramov P., Saburina I., Perova N., Sevastjanov V. and Gautier S.** Combined transplantation of allogenic stem cells and liver cells promote tolerance and prevent cell-graft rejection // Abstract book of ESOT and AST Joint Meeting. – 2012. – P. 25.
20. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Avramov P., Saburina I., Pulin A., Gorkun A., Demura T., Perova N., Sevastjanov V., Gautier S.** Neogenesis of liver structural units after co-transplantation of liver and bone marrow cells as a basis for prolonged recovery of damaged liver // The International Journal of Artificial Organs. – Vol. 35 (8). – P. 592–593.
21. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lundup A., Velikiy D., Petrakow K., Burluckiy Y., Volkova E., Avramov P., Pulin A., Demura T., Perova N., Sevastjanov V., Gautier S.** Rat models for organogenesis: building a bioartificial liver for the correction of morphofunctional liver damage // 8th swiss experimental surgery symposium. – Geneva, 19–20 January 2012. – P. 15.
22. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Volkova E., Avramov P., Iljinsky I., Mogeiko N., Luneva O., Pulin A., Gorkun A., Saburina I., Demura T., Perova N., Sevastjanov V., Gautier S.** Treatment of chronic liver failure by transplantation of liver cells and bone marrow stem cells: 1 year experience. European society for surgical research, 47th Annual Congress, 6–9 June 2012, Lille, France. – P. 59.

23. **Shagidulin M., Saburina I., Pulin A., Gorkun A., Kosheleva N., Zurina I., Repin V., Onishchenko N., Gautier S.** Transplantation of mesenchymal stromal cells in treatment of chronic liver failure // *European Surgery. ACA.* – 2012. – Vol. 44 supplement 246. – P. 14.
24. **Shagidulin M., Saburina I., Pulin A., Gorkun A., Kosheleva N., Zurina I., Repin V., Onishchenko N., Gautier S.** Spheroids of mesenchymal stromal cells: a novel method of chronic liver failure treatment // *Abstract book of MISOT 4 th Expert Meeting.* – 2012. – P. 20.
25. **Shevchenko O.P., Khalilulin T.A., Shevchenko A.O., Orlova O.V., Mironkov B.L., Kazakov E.N., Kormer A.J., Gautier S.V.** Comparison of Predictive Significance of Soluble CD40 Ligand, Pregnancy –Associated Plasma Protein A, and Placental Growth Factor for Graft Failure Development after Heart Transplantation // *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* – April 2012. – Vol. 31. – № 4S. – P. 172–173.
26. **Shevchenko O., Tsiurlikova O., Gichkun O., Kurabekova R., Ammosov A., Gautier S.** Plasma levels of soluble CD30 and CD40L in pediatric patients after liver transplantation. – *Advances in clinical chemistry and laboratory medicine.* Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin/Boston. – 2012. – P. 124–127.
27. **Stolyarevich E., Kim I., Artyukhina L., Kurenkova L., Tomilina N.** Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity: Two Strategies of Patients Management // *Transplantation.* 27 November. – 2012. – Vol. 94. – P. 974.
28. **Vasilets V.N., Surguchenko V.A., Sevastianov V.I.** Fabrication and plasma modification of polymer scaffolds for regenerative and replacement medicine // *Thirteenth International Conference on Plasma Surface Engineering.* Garmisch-Partenkirchen. September, 10–14, 2012. – P. 499.
29. **Velikiy D., Zakiryanov A., Onishchenko N., Shagidulin M.** Efficiency of bone marrow cell implantation at different stages of autoimmune type I diabetes in rats. *European society for surgical research, 47th Annual Congress, 6–9 June 2012, Lille, France.* – P. 155.
30. **Zokoyev A., Kaabak M., Sandrikov V., Babenko N., Samsonov D., Morozova M.** Campath Induction Significantly Influences Cadaveric Kidney Graft Morphology on 1 and 3 Year // *Protocol Biopsies // Transplantation.* 27 November. – 2012. – Vol. 94. – P. 971.
31. **Murray Chr. J. L., Vos Th., Lozano R., Bikbov B. et al.** Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380. – № 9859. – P. 2197–2223.
32. **Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Bikbov B. et al.** Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380. – № 9859. – P. 2095–2128.
33. **Th. Vos, Flaxman A.D., Naghavi M., Bikbov B. et al.** Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 // *Lancet.* – 2012. – Vol. 380. – № 9859. – P. 2163–2196.

ООО «Издательство «Триада». ИД № 06059 от 16.10.01 г.
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 504.
Тел./факс: (4822) 42-90-22, 35-41-30.
E-mail: triada@stels.tver.ru
<http://www.triada.tver.ru>

Подписано к печати 8.05.13. Формат бумаги 72×104 ¹/₁₆.
Бумага офсетная. Усл. печ. листов 19. Тираж 1000 экз.

Заказ № .

Отпечатано в филиале ОАО «ТОТ» Ржевская типография.
г. Ржев, ул. Урицкого, д. 91

