

ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Том XIII
2021 год

Под редакцией С.В. Готье

*В 2021 году исполнилось 90 лет
со дня рождения академика
Валерия Ивановича Шумакова*



Министерство здравоохранения Российской Федерации

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

Общероссийская общественная организация трансплантологов
«Российское трансплантологическое общество»

Трансплантология: итоги и перспективы

Том XIII

2021 год

Под редакцией академика РАН С.В. Готье

Москва
2022

УДК 616-089.819.843
ББК 52.5
Т65

Т65 **Трансплантология: итоги и перспективы. Том XIII. 2021 год /**
Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада»,
2022. – 416 с.: ил.

ISBN 978-5-6048463-3-9

Рецензенты:

Стародубов Владимир Иванович – академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ
«Центральный научно-исследовательский институт организации
и информатизации здравоохранения» Минздрава России,
академик-секретарь отделения медицинских наук РАН

Гранов Дмитрий Анатольевич – академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБУ
«Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
имени академика А.М. Гранова» Минздрава России

В XIII томе издания «Трансплантология: итоги и перспективы» представлены основные события и достижения клинической трансплантологии в 2021 году, перспективы развития этой отрасли медицины. Сборник включает данные об исследованиях и клинических разработках, результатах интеллектуальной деятельности в области трансплантологии, биоискусственных систем и регенеративной медицины, а также вспомогательного кровообращения и перфузионных технологий. В издание включены материалы прошедшего V Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов», защищенных диссертационных работ по специальности «трансплантология и искусственные органы», библиография изданных в 2021 году публикаций российских авторов в зарубежных журналах.

ББК 52.5

Техническая редакция:
Н.Ш. Бегмурдова, О.Н. Щетинина

ISBN 978-5-6048463-3-9

© С.В. Готье, 2022
© Макет ООО «Издательство «Триада», 2022

Научный редактор

Готье Сергей Владимирович

*Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,
руководитель ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр трансплантологии и искусственных органов имени академика
В.И. Шумакова» Минздрава России,
заведующий кафедрой трансплантологии и искусственных органов
лечебного факультета ФGAOY BO Первый
Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет),
главный специалист трансплантолог Минздрава России,
председатель Общероссийской общественной
организации трансплантологов «Российское трансплантологическое
общество»*

Авторы

Басок Юлия Борисовна

*Доктор биологических наук, старший научный сотрудник
отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии
ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России*

Великий Дмитрий Алексеевич

*Доктор медицинских наук, заведующий отделом подготовки кадров,
ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова»
Минздрава России*

Гаджиева Патимат Магомедовна

*Кандидат медицинских наук, врач-педиатр педиатрического отделения
ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России*

Готье Сергей Владимирович

*Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, руководитель
ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России,
заведующий кафедрой трансплантологии и искусственных органов
лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский университет)*

Грудинин Никита Владимирович

*Кандидат медицинских наук, врач сердечно-сосудистый хирург
отделения хирургического № 3 ФГБУ «НМИЦ ТИО
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России*

Золотова Елизавета Николаевна

*Кандидат медицинских наук, аспирантка ФГБУ «НМИЦ ТИО
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России*

Кириллова Александра Дмитриевна

*Кандидат биологических наук, аспирантка ФГБУ «НМИЦ ТИО
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России*

Клышников Кирилл Юрьевич

*Кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории
новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний» Минобрнауки России (г. Кемерово)*

Коробка Вячеслав Леонидович,

Доктор медицинских наук, главный врач ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница»

Кострыкин Михаил Юрьевич

Доктор медицинских наук, заместитель главного врача по сердечно-сосудистой хирургии и трансплантологии ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница»

Кудрявцева Юлия Александровна

Доктор биологических наук, заведующая отделом экспериментальной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Минобрнауки России (г. Кемерово)

Марченко Алексей Васильевич

Кандидат биологических наук, руководитель проекта Фонда перспективных исследований

Минина Марина Геннадьевна

Доктор медицинских наук, заведующая Московским координационным центром органного донорства ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ»

Мещеряков Сергей Владимирович

Кандидат медицинских наук, врач-хирург отделения хирургического № 2 ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Немец Евгений Абрамович

Кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Попцов Виталий Николаевич

Доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по реализации высокотехнологичных программ, заведующий отделением анестезиологии-реанимации и отделением реанимации и интенсивной терапии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Севастьянов Виктор Иванович

Доктор медицинских наук, заведующий отделом биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Сыркина Алла Владиславовна

Кандидат медицинских наук, врач-невролог консультативно-диагностического отделения ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Тенчурина Эльмира Анвяровна

Кандидат медицинских наук, врач-хирург Московского координационного центра органного донорства ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ»

Улыбышева Адэля Анверовна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела координации и мониторинга научных программ ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Хомяков Сергей Михайлович

Кандидат медицинских наук, заместитель директора – руководитель Центра организационно-методического руководства учреждениями по профилям трансплантации органов и(или) тканей ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, заведующий кафедрой биомедицинского права лечебного факультета ФДПО ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Цирульникова Ольга Мартеновна

Доктор медицинских наук, профессор кафедры трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФGAOY BO Первый MГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), врач-терапевт терапевтического отделения ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Шевченко Алексей Олегович

Член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий Центром персонифицированных трансляционных технологий лечения критических состояний ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, заведующий кафедрой кардиологии ФДПО ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, профессор кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ФGAOY BO Первый MГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Шевченко Ольга Павловна

Доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, заведующая отделом регуляторных механизмов в трансплантологии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, профессор кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ФGAOY BO Первый MГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Шигаев Егор Федорович

Кандидат медицинских наук, врач-хирург отделения хирургического № 3 ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	12
I. ЮБИЛЕЙНЫЕ ШУМАКОВСКИЕ ЧТЕНИЯ, ПОСВЯЩЕННЫЕ 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ВАЛЕРИЯ ИВАНОВИЧА ШУМАКОВА <i>Готье С.В., Шевченко О.П.</i>	15
II. V РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС «ТРАНСПЛАНТАЦИЯ И ДОНОРСТВО ОРГАНОВ» (с международным участием) <i>Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Улыбышева А.А.</i>	21
III. ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2021 ГОДУ (XIV сообщение регистра Российского трансплантологического общества) <i>Готье С.В., Хомяков С.М.</i>	37
IV. ПОДГОТОВКА СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ <i>Великий Д.А.</i>	73
V. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФГБУ «НМИЦ ТИО ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА» МИНЗДРАВА РОССИИ	77
VI. ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ В НОВОЙ НОМЕНКЛАТУРЕ НАУЧНЫХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ, ПО КОТОРЫМ ПРИСУЖДАЮТСЯ УЧЕНЫЕ СТЕПЕНИ	83
VII. ПЕРЕЧЕНЬ ДЕЙСТВУЮЩИХ ДИССЕРТАЦИОННЫХ СОВЕТОВ по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности «трансплантология и искусственные органы» с указанием диссертационных работ, защищенных в 2021 г.	85

VIII. МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИЙ

по специальности «трансплантология и искусственные органы», защищенных в 2021 г. в диссертационном совете ДСТИО 001.21 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России	93
--	----

Материалы диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук	95
---	-----------

Разработка и обоснование стратегии листа ожидания трансплантации печени <i>Кострыкин М.Ю., Цирульников О.М., Коробка В.Л.</i>	96
--	----

Материалы диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук	129
---	------------

Экспериментальные подходы к регенерации и тканевой инженерии суставного хряща с использованием клеточно-инженерных конструкций <i>Басок Ю.Б., Севастьянов В.И.</i>	130
---	-----

Материалы диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук	181
---	------------

Профилактика цитомегаловирусной инфекции у детей после трансплантации почки <i>Гаджиева П.М., Цирульников О.М.</i>	182
---	-----

Нормотермическая машинная <i>ex vivo</i> перфузия донорских легких в условиях эксперимента <i>Грудинин Н.В., Готье С.В.</i>	204
--	-----

Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом 2-го типа <i>Золотова Е.Н., Попцов В.Н.</i>	226
--	-----

Разработка биопротеза клапана сердца, предназначенного для установки по типу «протез в протез» <i>Клышников К.Ю., Кудрявцева Ю.А.</i>	251
--	-----

Трансплантация печени детям: клиническое значение полиморфизма гена <i>TGFB1</i> <i>Мещеряков С.В., Шевченко О.П.</i>	280
--	-----

Неврологическое развитие детей – реципиентов донорской печени <i>Сыркина А.В., Цирульников О.М.</i>	296
Модель балльной оценки доноров сердца <i>Тенчурина Э.А., Минина М.Г.</i>	316
Отдаленные результаты трансплантации легких <i>Шигаев Е.Ф., Готье С.В.</i>	338
Материалы диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук	363
Тканеспецифические матриксы из децеллюляризованных фрагментов печени и суставного хряща для тканевой инженерии <i>Кириллова А.Д., Немец Е.А., Севастьянов В.И.</i>	364
МикроРНК-424 при трансплантации сердца: анализ экспрессии и диагностическая эффективность <i>Марченко А.В., Шевченко А.О.</i>	390
IX. ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ В 2021 г.	413

Глубокоуважаемые коллеги!

Представляя очередной, тринадцатый том ежегодного издания «Трансплантология: итоги и перспективы», следует поделиться соображениями о состоянии и путях развития «нашей» области медицины и медицинской науки, опираясь на тот уже немалый отрезок времени и объем опыта, который отражен в «Итогах» 2009–2020 гг.

Академик В.И. Шумаков – основатель и на протяжении многих лет лидер отечественной трансплантологии – оставил нам достойное наследие, значимость которого трудно переоценить. Я бы назвал этот более чем 30-летний период эпохой становления и открытий. Была доказана принципиальная возможность и накоплен первый, во многом уникальный, опыт трансплантации жизненно важных органов, заложены основы научных направлений в области трансплантационной иммунологии, искусственных органов и многое другое.

В 2008 году на меня была возложена ответственность за развитие ведущего федерального трансплантологического центра и, в качестве главного внештатного специалиста Минздрава России, всего трансплантологического направления медицины нашей страны. Первое десятилетие деятельности в этом качестве было посвящено решению задачи превратить трансплантологию в нашей стране из области престижной и инновационной феноменологии в реальный, доступный для населения вид медицинской помощи. Решались задачи развития органного донорства в регионах, совершенствования хирургической техники и анестезиологического пособия, становления высокопрофессионального ведения реципиентов в раннем и отдаленном периоде после трансплантации, обучения специалистов, разработки научных аспектов. Усилия увенчались успехом: удалось многократно увеличить число операций по трансплантации почек, печени, сердца, получить ближайшие и отдаленные результаты, которые соответствуют мировому уровню.

Начиная с 2009 года, систематизируя и собирая «под одной обложкой» документы, клинические и научные результаты, которых удалось достичь за очередной год, мы стремились создавать по свежим впечатлениям картину состояния отечественной трансплантологии на каждый конкретный период времени. Основу составили ежегодные сообщения регистра Российского трансплантологического общества, аналитические обзоры по результатам научных исследований, продуктов интеллектуальной деятельности, материалы завершенных и защищенных диссертационных работ, зарубежных публикаций отечественных авторов в области трансплантологии и искусственных органов, обзоры всероссийских съездов и конгрессов трансплантологов. Формируя таким образом год за годом очередные тома «Итогов», мы смогли не только накопить достаточно сведений, создать антологию современной отечественной трансплантологии, но и получили возможность анализировать векторы ее развития.

Сегодня мы решаем не менее амбициозные задачи: распространение опыта и трансляция трансплантационных технологий в регионы России и страны ближнего зарубежья. Уверен, что, консолидируя усилия всего трансплантологического сообщества, мы обязательно добьемся успехов во благо здоровья наших сограждан.

*С уважением,
главный специалист трансплантолог Минздрава России,
руководитель Национального медицинского исследовательского
центра трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И. Шумакова Минздрава России
академик РАН
С.В. Готье*



**I. ЮБИЛЕЙНЫЕ
ШУМАКОВСКИЕ ЧТЕНИЯ,
ПОСВЯЩЕННЫЕ 90-ЛЕТИЮ
СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
ВАЛЕРИЯ ИВАНОВИЧА
ШУМАКОВА**

ЮБИЛЕЙНЫЕ ШУМАКОВСКИЕ ЧТЕНИЯ, ПОСВЯЩЕННЫЕ 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ВАЛЕРИЯ ИВАНОВИЧА ШУМАКОВА

Готье С.В., Шевченко О.П.

2021 год отмечен знаменательным событием, значимым для отечественной медицины – исполнилось 90 лет со дня рождения академика Валерия Ивановича Шумакова.

Более 33 лет Валерий Иванович не только был бессменным директором НИИ трансплантологии и искусственных органов, но и лидером, определившим пути, заложившим основы и всей своей жизнью способствовавшим развитию и становлению отечественной трансплантологии. Уже 14 лет, прошедших после ухода Валерия Ивановича, НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова не только существует, но и успешно развивается, выполняя роль флага отечественной трансплантологии.

Центральным событием празднования 90-летия со дня рождения Валерия Ивановича явились Юбилейные Шумаковские чтения, организованные в день его рождения 9 ноября 2021 года в Национальном медицинском исследовательском центре трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова. Всероссийские конференции «Шумаковские чтения» – это многолетняя и бережно сохраняемая традиция: первые Шумаковские чтения прошли 9 ноября 2010 г. в рамках V Всероссийского съезда трансплантологов и были посвящены проблемам сердечно-сосудистой хирургии и трансплантации сердца.

Открытие юбилейных торжеств состоялось в зале «Демихов». Все мероприятие проходило в гибридном формате в силу действующих в то время эпидемиологических ограничений, и помимо присутствующих в зале в конференции приняли участие в online-формате представители Российской академии наук, общественности, многочисленные ученики, коллеги и близкие Валерия Ивановича, отдающие дань уважения его памяти. Академик С.В. Готье открыл торжественное заседание, сказав теплые слова о величии личности Валерия Ивановича и значимости его вклада в отечественную медицину и медицинскую науку. С приветственным словом к участникам Юбилейных Шумаковских чтений обратился член Президиума РАН, академик-секретарь отделения медицинских наук РАН академик Владимир Иванович Стародубов.



9 ноября 2021 года в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова состоялись Юбилейные Шумаковские чтения, посвященные 90-летию со дня рождения Валерия Ивановича. Академик С.В. Готьё открыл торжественное заседание



С приветствием к участникам обратился член Президиума РАН, академик-секретарь отделения медицинских наук академик В.И. Стародубов

Научная программа Юбилейных Шумаковских чтений была посвящена проблемам трансплантации сердца, сердечно-сосудистой хирургии, механической поддержки кровообращения. С докладами выступили ученики Валерия Ивановича, начинавшие свой профессиональный путь под его руководством и ныне ставшие лидерами соответствующих направлений в медицине и медицинской науке.



*Выступление профессора Г.П. Иткина с докладом
на Юбилейных Шумаковских чтениях*



9 ноября 2021 г. 90 лет со дня рождения академика В.И. Шумакова



*Выступление руководителя НМИЦ ТИО им ак. В.И. Шумакова
академика С.В. Готье у памятника Валерию Ивановичу 9 ноября 2021 г.*

У бронзового памятника академику В.И. Шумакову, который стоит во дворе Центра, носящего его имя, собираются его коллеги, ученики, пациенты – все, кто хранит благодарную память об этом большом враче и ученом, основателе отечественной трансплантологии.

**V РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
КОНГРЕСС «ТРАНСПЛАНТАЦИЯ
И ДОНОРСТВО ОРГАНОВ»
(с международным участием)**

V РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС «ТРАНСПЛАНТАЦИЯ И ДОНОРСТВО ОРГАНОВ» (с международным участием)

Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Улыбышева А.А.

27–29 сентября 2021 года в Москве состоялся V Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов».

Организаторами конгресса традиционно выступили Министерство здравоохранения Российской Федерации, Российская академия наук, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Союз медицинского сообщества «Национальная медицинская палата», Общероссийская общественная организация трансплантологов «Российское трансплантологическое общество», Межрегиональная общественная организация нефрологических пациентов «НЕФРО-ЛИГА».



*Обложка программы V Российского национального конгресса
«Трансплантация и донорство органов»*

На открытии конгресса к участникам и гостям обратился с видеоприветствием Министр здравоохранения Российской Федерации М.А. Мурашко, который отметил, что трансплантология является одним из самых инновационных и высокотехнологичных направлений медицины. Конгресс предоставляет возможность обсуждения актуальных научно-практических вопросов, ведения высокопрофессионального диалога, живого общения специалистов из всех регионов России, зарубежных коллег и партнеров. Министр пожелал участникам интересной работы, новых успехов.



*Выступление Министра здравоохранения Российской Федерации
М.А. Мурашко на открытии V Российского национального конгресса
«Трансплантация и донорство органов»*

С приветственным словом выступили Дмитрий Анатольевич Морозов, председатель комитета Госдумы по охране здоровья, Лейла Камаловна Садыхова, начальник отдела государственного контроля за исполнением порядков оказания медицинской помощи и стандартов медицинской помощи Росздравнадзора, Виктор Викторович Фомин, проректор по клинической работе и дополнительному профессиональному образованию Сеченовского университета, руководители научных и медицинских учреждений, представители общественных организаций.



*Выступление председателя комитета Госдумы по охране здоровья
Д.А. Морозова на открытии V Российского национального конгресса
«Трансплантация и донорство органов»*

От имени Российской академии наук с приветствием к конгрессу обратился академик-секретарь отделения медицинских наук академик В.И. Стародубов.



*Выступление академика-секретаря отделения медицинских наук РАН
академика В.И. Стародубова на открытии V Российского национального
конгресса «Трансплантация и донорство органов»*

Состоялось торжественное вручение медали «Академик В.И. Шумаков» видным организаторам здравоохранения, внесшим большой вклад в совершенствование организации трансплантационной помощи – профессору Л.А. Габбасовой, заведующей кафедрой многопрофильной клинической подготовки факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, и члену-корреспонденту РАН А.В. Шабунину, главному врачу ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ».

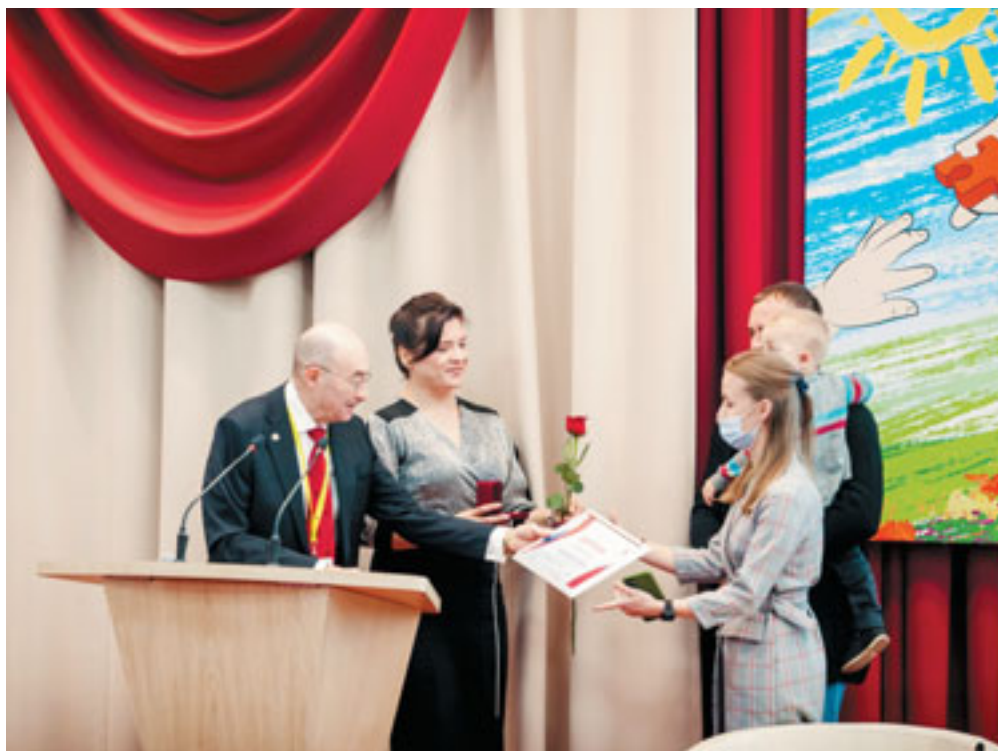


Вручение медали «Академик В.И. Шумаков» Л.А. Габбасовой, заведующей кафедрой многопрофильной клинической подготовки факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова



Вручение медали «Академик В.И. Шумаков» А.В. Шабунину, главному врачу ГБУЗ «ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ»

К открытию конгресса была приурочена ставшая традиционной общественная акция – вручение почетного знака «Дарящему часть себя» за гуманизм и самопожертвование пациентам, ставшим родственными донорами почки и части печени для спасения жизни своих родных. В торжественном награждении приняла участие заместитель председателя Совета при Президенте Российской Федерации по развитию гражданского общества и правам человека Ирина Владимировна Киркора.



Награждение родственных доноров почки и части печени почетным знаком «Дарящему часть себя»

Насыщенная программа Конгресса включала около 90 научных докладов и выступлений, представленных ведущими российскими и зарубежными учеными и клиницистами, организаторами здравоохранения, в которых были затронуты вопросы, касающиеся нормативно-правового регулирования, медицинских, социальных, организационных аспектов оказания трансплантологической помощи и донорства органов в Российской Федерации. Участники Конгресса обсудили современные научные и образовательные проблемы, среди которых использование передовых биомедицинских технологий, достижения регенеративной медицины и клеточных технологий, создание и применение перфузионных систем.

Всероссийская конференция «XII Шумаковские чтения» была посвящена педиатрической трансплантации. Академик С.В. Готье открыл Шумаковские чтения лекцией «Детская трансплантация в РФ: вчера, сегодня, завтра». С докладами выступили зарубежные гости: N-J Yi (Seoul, South Korea) – «Technical tips for using large donors considering children's growth in pediatric liver transplantation», B. Tonshoff (Heidelberg, Germany) – «Immunosuppressive therapy in pediatric kidney transplant recipients: current status and future developments», T. Jahnukainen (Helsinki, Finland) – «Kidney transplantation in small children», а также специалисты в области педиатрической трансплантологии из Минска и Москвы.



Выступление академика С.В. Готье с лекцией «Детская трансплантация в РФ: вчера, сегодня, завтра» на открытии XII Шумаковских чтений

На заседании «Трансплантация сердца и легких» были представлены новые разработки, технологии лечения реципиентов сердца, современные тенденции в трансплантации легких. Доклады представили ученые и клиницисты ведущих центров Москвы, Санкт-Петербурга, Краснодара, Новосибирска. L. Sternik (Израиль) представил доклад «ECMO as a rescue therapy for cardiogenic shock and a bridge to LVAD».

Вопросы клинической трансплантологии обсуждались на заседании «Трансплантация при злокачественных новообразованиях печени: оправданы ли надежды?». Были обсуждены ключевые вопросы выбора тактики и лечения пациентов со злокачественными новообразованиями печени. С лекцией «Liver cancer-the burden of disease and implications for national self sufficiency» выступила Nancy L. Ascher (San Francisco, USA).



Выступление T. Jahnukainen (Helsinki, Finland) с докладом «Kidney transplantation in small children» на XII Шумаковских чтениях



Выступление N-J Yi (Seoul, South Korea) с докладом «Technical tips for using large donors considering children's growth in pediatric liver transplantation»



Рабочий момент XII Шумаковских чтений V Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов»



Рабочий момент заседания «Трансплантация сердца и легких»



Рабочий момент заседания «Трансплантация сердца и легких»

Отдельные заседания в научной программе конгресса были посвящены донорству органов (Как сохранить «светильники жизни»), иммуносупрессивной терапии («Хрупкое равновесие...»), урокам пандемии COVID-19.



А.О. Шевченко (Москва)



И.В. Пашков (Москва)



В.Н. Попцов (Москва)



А.Р. Монахов (Москва)



Г.В. Николаев (Санкт-Петербург)



Е.Д. Космачева (Краснодар)



С лекциями и докладами выступили ведущие врачи и ученые



*Рабочий момент V Российского национального конгресса
«Трансплантация и донорство органов»*

На конференции «Биоискусственные органы, тканевая инженерия и регенеративная медицина» участники познакомились с прогрессом в разработке технологий клеточной, тканевой инженерии и регенеративной медицины для компенсации или замены функций пораженных органов и тканей человека на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях.

В рамках конгресса была проведена 10-я всероссийская конференция «Научные школы и новые имена» с представлением научных школ и их воспитанников – молодых ученых, где обсуждались вопросы, находящиеся на острие современной науки: разработка устройств вспомогательного кровообращения, оценка донорских органов, лечение ранних хирургических осложнений у реципиентов печени.

В программу конгресса были включены учебные мероприятия Национальной школы трансплантологии. Участникам выдали свидетельства государственного образца, подтверждающие получение 12 зачетных единиц в рамках системы непрерывного медицинского образования.

Большой интерес среди участников конгресса вызвал обучающий семинар для главных внештатных специалистов и организаторов здравоохранения регионов. В семинаре приняли участие организаторы и ответственные лица из медицинских организаций, оказывающих в РФ медицинскую помощь по трансплантации органов. Выступил с докладом «Совершенствование организации трансплантационной помощи и органного донорства в субъектах РФ: методические аспекты» руководитель центра организационно-методического руководства учреждениями по профилю «трансплантация» ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России С.М. Хомяков.



Рабочий момент обучающего семинара для главных внештатных специалистов и организаторов здравоохранения регионов

Конгрессы трансплантологов известны не только значимой научной программой, но и мощной общественно-социальной составляющей, направленной на формирование в обществе правильного отношения к столь важной и сложной стороне жизни, как донорство и трансплантация, на помощь гражданам, живущим с донорскими органами или ожидающими трансплантацию.

Руководитель комитета «Пациентоориентированная телемедицина» при Всероссийском союзе пациентов И.Г. Кургальская представила пациенто-ориентированный проект «Телемедицинские технологии в современных реалиях!».



*Презентация проекта «Телемедицинские технологии в современных реалиях!»
руководителем комитета «Пациентоориентированная телемедицина»
при Всероссийском союзе пациентов И.Г. Кургальская*

Перед открытием конгресса состоялась всероссийская акция в честь Дня донора, инициатором которой стал главный внештатный специалист трансплантолог Минздрава России Сергей Владимирович Готье. На территории НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова более 10 лет стоит памятный камень, на котором высечены слова античного поэта: «...Смертные жизнь принимают одни у других... в руки из рук отдавая, как в беге, светильники жизни» (Тит Лукреций Кар). Вокруг него руками врачей были высажены многолетние

цветы, как дань памяти и уважения тем, кто подарил возможность жить своим близким и тем, кто посмертно стал донором органов. Растения будут цвести многие годы, став символом памяти тех, кто спас от смерти и подарил невероятную возможность жить, любить или даже расти другому человеку.

После закрытия конгресса состоялись заседания профильной комиссии по трансплантологии Министерства здравоохранения Российской Федерации и координационного совета ОООН «Российское трансплантологическое общество».

Материалы конгресса традиционно опубликованы в Приложении к журналу «Вестник трансплантологии и искусственных органов» (том XXIII). В него включены более 150 тезисов, докладов и выступлений, присланных из регионов Российской Федерации, стран ближнего и дальнего зарубежья.

**III. ДОНОРСТВО
И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
В 2021 ГОДУ
(XIV сообщение регистра
Российского
трансплантологического
общества)**

ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2021 ГОДУ (XIV сообщение регистра Российского трансплантологического общества)

Готье С.В., Хомяков С.М.

Введение

Мониторинг состояния и тенденций развития донорства и трансплантации органов в России в форме регистра проводится под эгидой профильной комиссии по трансплантологии Минздрава России и Российского трансплантологического общества, предыдущие сообщения были опубликованы в 2009–2021 гг. [1–12].

Данные регистра предоставляются в следующие международные регистры:

- International Registry of Organ Donation and Transplantation (IRODaT);
- Registry of the European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association, ERA – EDTA Registry;
- Registries of the International Society for Heart and Lung Transplantation – ISHLT Registries.

С 2016 г. регистр используется в качестве инструмента контроля качества и полноты сбора данных в информационной системе учета донорских органов и тканей человека, доноров и реципиентов, действующей в соответствии с приказом Минздрава России от 8 июня 2016 г. № 355н.

Ежегодные сообщения регистра – это не только статистические данные за отчетный период, но и их системный анализ с оценкой актуального состояния трансплантационной помощи в Российской Федерации, тенденций и перспектив дальнейшего развития данной отрасли здравоохранения.

С 2019 г. регистр применяется для мониторинга реализации ведомственной целевой программы «Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации», утвержденной приказом Минздрава России от 4 июня 2019 г. № 365.

Сбор данных для регистра осуществляется путем анкетирования ответственных лиц всех центров трансплантации в Российской Федерации. Сравнительный анализ полученных данных проводится в динамике лет, между отдельными регионами, центрами трансплантации и с данными международных регистров.

Рабочая группа выражает благодарность всем постоянным и новым участникам регистра, предоставившим данные, а также Министерству

здравоохранения Российской Федерации и ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России.

Центры трансплантации и листы ожидания

В Российской Федерации центры трансплантации расположены в 35 субъектах РФ с общим населением 103,4 млн человек (рис. 1).

В 2021 году трансплантация почки осуществлялась в 45 центрах, трансплантация печени – в 29, трансплантация сердца – в 17, трансплантация поджелудочной железы – в 3, трансплантация легких – в 3, трансплантация тонкой кишки – в 1.

В 2021 году различные трансплантационные вмешательства выполнялись в 57 медицинских организациях:

- 19 – это учреждения федерального подчинения, включая 12 учреждений Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2 учреждения Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 4 учреждения Федерального медико-биологического агентства, 1 учреждение Министерства обороны России;
- 38 – это учреждения субъектов РФ.

Еще в 8 медицинских организациях, обладающих трансплантационными технологиями, в 2021 году трансплантации органов не выполнялись в связи с перепрофилированием для лечения больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19.

В листе ожидания трансплантации почки в течение 2021 г. в РФ состояло 6313 потенциальных реципиентов, то есть 10,5% от общего числа пациентов, получающих лечение гемо- и перитонеальным диализом (по неопубликованным данным регистра Российского диализного общества – около 60 000). Из них 1567 были включены в лист ожидания в 2021 г. впервые. В листе ожидания трансплантации печени в течение 2021 г. состояло 2272 потенциальных реципиента, из них 886 были включены в лист ожидания впервые в 2021 году. В листе ожидания трансплантации сердца в течение 2021 г. состояло 736 потенциальных реципиентов, из них 326 были включены в лист ожидания впервые в 2021 году. В период с 2012-го по 2021 г. в РФ по мере увеличения числа трансплантаций органов наблюдается увеличение числа пациентов в листах ожидания трансплантации почки почти в 2 раза, печени – в 4,7 раза и сердца – в 1,8 раза [4–12].

В 2021 году в России было выполнено 2318 трансплантаций органов, или 15,9 на 1 млн населения, из них 271 пересадка органов детям (табл. 1 и 2).

Число трансплантаций органов в РФ по сравнению с 2020 годом увеличилось на 18,3% (+358). Темп увеличения трансплантационной активности в РФ в 2021 году оказался выше на 43,2% запланированного в ведомственной целевой программе «Донорство и трансплантация органов

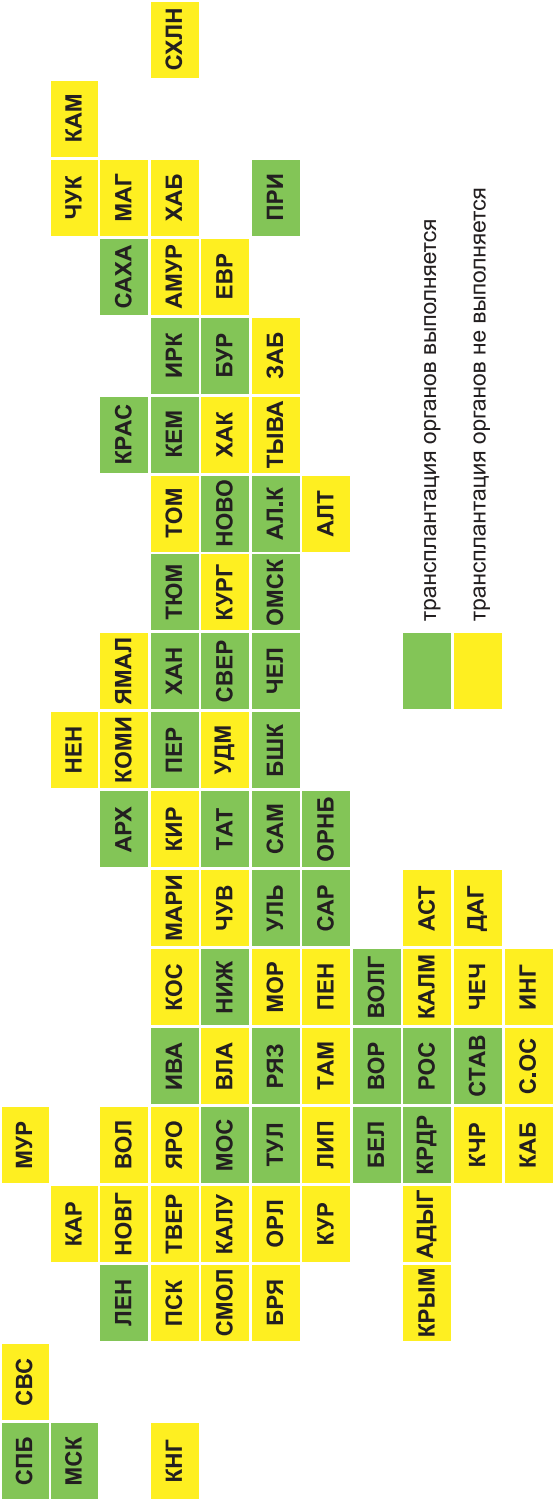


Рис. 1. География центров трансплантации органов в РФ в 2021 году

Таблица 1

Донорство и трансплантация органов в РФ в 2021 году

Показатель	Количество (абс.)	Показатель на 1 млн населения*
Донорство органов		
Всего доноров органов	1016	6,9
Посмертные доноры	652	4,5
Живые (родственные) доноры	364	2,5
Трансплантация органов		
Всего пересажено органов, <i>из них несовершеннолетним</i>	2318 271	15,9 —
Почка в т. ч. трупная от живого донора <i>из них несовершеннолетним</i>	1384 1183 201 122	9,5 — — —
Печень в т. ч. трупная от живого донора <i>из них несовершеннолетним</i>	618 455 163 134	4,2 — — —
Сердце <i>из них несовершеннолетним</i>	290 15	2,0 —
Поджелудочная железа	10	0,1
Легкие <i>из них несовершеннолетним</i>	13 0	0,1 —
Комплекс «сердце–легкие» <i>из них несовершеннолетним</i>	2 0	— —
Тонкая кишка <i>из них несовершеннолетним</i>	1 0	— —

* – Численность населения РФ в 2021 г. – 146,2 млн чел. (www.gks.ru).

в Российской Федерации», утвержденной приказом Минздрава России от 4 июня 2019 г. № 365.

Ежемесячно выполнялось от 124 (в январе) до 230 (в ноябре) трансплантаций органов (в среднем около 200), рис. 2.

В 2021 году в РФ выполнялось от 69 до 138 трансплантаций почек в месяц, 37–69 трансплантаций печени, 15–30 трансплантаций сердца.

По данным Федерального регистра по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи, в 2021 г. за счет средств системы обязательного медицинского страхования, предусмотренных для оказания высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация», было выполнено 2052 (88,5%) трансплантаций органов (в 2020 г. – 1842; 94,0%), рис. 3. Еще 266 (11,5%) пересадок органов было выполнено за счет средств субъектов РФ и федерального бюджета.

Таблица 2

Трансплантационная активность центров РФ в 2021 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»	Тонкая кишка
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.1.	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ЦФО	684	283	185	98	177	76	101	211	2	9	2	0
1.2.	Филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Волжский, ЮФО	32	28	12	16	4	4	0	0	0	0	0	0
2	«Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» МЗ РФ, Москва, ЦФО	51	51	39	12	0	0	0	0	0	0	0	0
3	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва, ЦФО	40	40	38	2	0	0	0	0	0	0	0	0

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
4	ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского», Москва, ЦФО	23	14	12	2	8	0	8	0	1	0	0	0
5	ФГБУ «Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, ЦФО	54	13	11	2	41	14	27	0	0	0	0	0
6	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ, Москва, ЦФО	3	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
7	ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва, ЦФО	15	15	3	12	0	0	0	0	0	0	0	0
8	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва, ЦФО	127	87	87	0	40	40	0	0	0	0	0	0
9	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, ЦФО	369	231	231	0	122	121	1	5	7	3	0	1
10	ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, ЦФО	6	0	0	0	6	6	0	0	0	0	0	0
11	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область, ЦФО	59	40	40	0	19	19	0	0	0	0	0	0

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
12	ФГБУ «Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (КБ № 119), Московская область, ЦФО	27	25	19	6	0	0	0	2	0	0	0	0
13	ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, ЦФО	5	4	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0
14	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж, ЦФО	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница», Тула, ЦФО	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0
16	ГБУ РО «Рязанская областная клиническая больница», Рязань, ЦФО	15	11	11	0	4	4	0	0	0	0	0	0
17	ОБУЗ «Ивановская областная клиническая больница», Ивановская область, ЦФО	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, СКФО	10	6	6	0	4	4	0	0	0	0	0	0
19	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	45	27	27	0	10	10	0	8	0	0	0	0
20	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский, ЮФО	20	20	7	13	0	0	0	0	0	0	0	0
21	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, ЮФО	56	35	35	0	14	13	1	7	0	0	0	0
22	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	12	0	0	0	12	12	0	0	0	0	0	0

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
23	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	22	0	0	0	0	0	0	22	0	0	0	0
24	ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	26	19	16	3	6	6	0	0	0	1	0	0
25	ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, СЗФО	22	20	20	0	2	2	0	0	0	0	0	0
26	СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург, СЗФО	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, СЗФО	10	0	0	0	10	10	0	0	0	0	0	0
28	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, СЗФО	22	22	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	ГБУЗ Архангельской области «Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волосевич», Архангельск, СЗФО	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
30	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, СФО	8	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0
31	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, СФО	72	25	19	6	47	29	18	0	0	0	0	0
32	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, СФО	3	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
33	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово, СФО	51	51	49	2	0	0	0	0	0	0	0	0
34	ГАОУЗ «Областная клиническая больница скорой медицинской помощи им. М.А. Подгорбунского», Кемерово, СФО	4	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0
35	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, СФО	18	11	11	0	7	7	0	0	0	0	0	0
36	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, СФО	17	16	16	0	1	1	0	0	0	0	0	0
37	ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», Красноярск, СФО	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
38	ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», Красноярск, СФО	21	17	17	0	4	4	0	0	0	0	0	0
39	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск, СФО	27	16	16	0	8	8	0	3	0	0	0	0
40	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, УФО	41	27	27	0	11	11	0	3	0	0	0	0
41	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, УФО	10	6	6	0	2	2	0	2	0	0	0	0
42	ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень, УФО	15	12	12	0	1	1	0	2	0	0	0	0
43	БУ «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск, УФО	9	6	4	2	1	1	0	2	0	0	0	0
44	ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара, ПФО	47	47	46	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
45	ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов, ПФО	8	8	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0
46	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов, ПФО	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, ПФО	28	14	11	3	14	7	7	0	0	0	0	0
48	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, ПФО	80	52	49	3	28	28	0	0	0	0	0	0
49	ГАУЗ «Межрегиональный клинко-диагностический центр», Казань, ПФО	3	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
50	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, ПФО	50	40	40	0	10	10	0	0	0	0	0	0
51	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа, ПФО	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
52	ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница», Пермь, ПФО	3	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
53	ГБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург, ПФО	6	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
55	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко», Улан-Удэ, ДФО	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
56	ГБУЗ «Приморская краевая клиническая больница № 1», Владивосток, ДФО	6	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Итого		2318	1384	1183	201	618	455	163	290	10	13	2	1

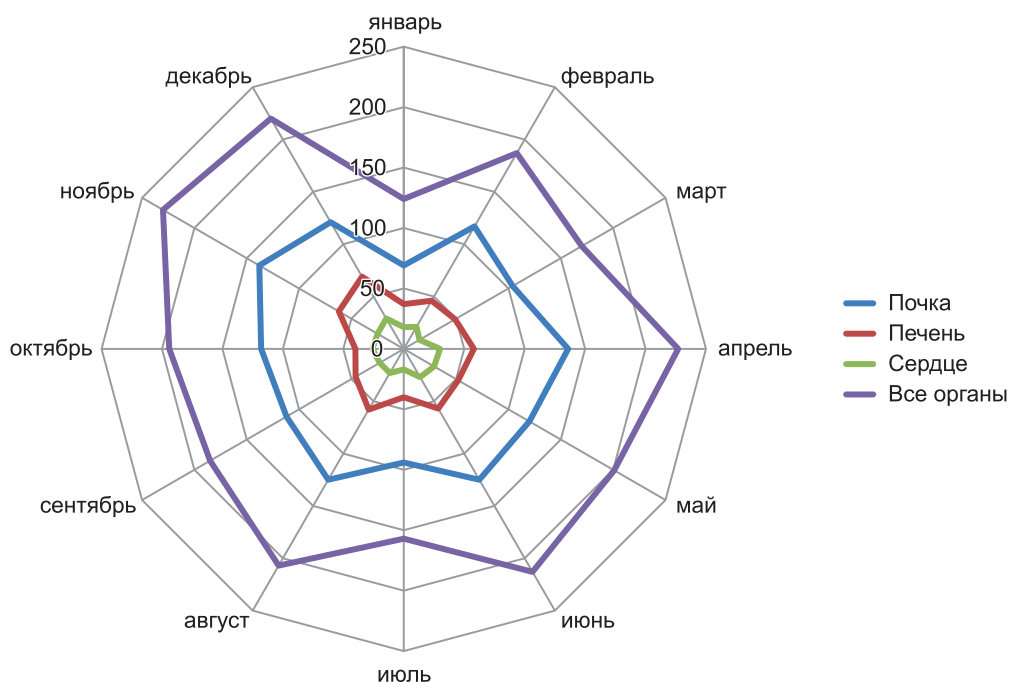


Рис. 2. Число трансплантаций органов по месяцам в 2021 году

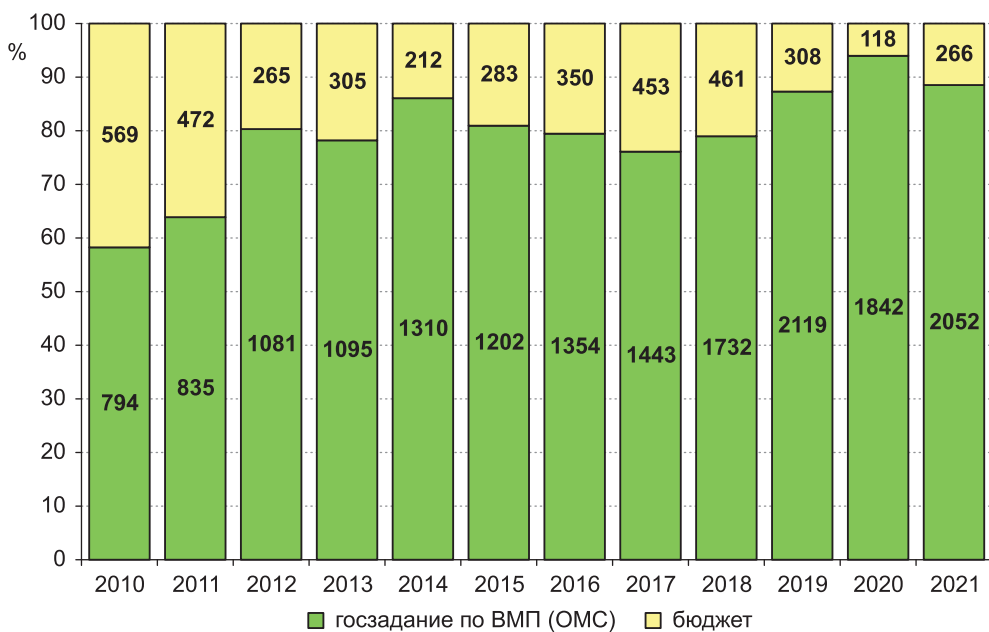


Рис. 3. Финансирование трансплантаций органов в РФ в 2010–2021 гг.

С 2010 г., когда в регистр был включен данный показатель, число трансплантаций органов, выполняемых за счет средств высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация», увеличилось в 2,6 раза, при этом доля трансплантаций органов, выполненных за счет указанных средств, возросла на 30,3%.

Нормативы финансовых затрат на единицу объема предоставления высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» в 2021 году составили:

- для трансплантации почки, поджелудочной железы, почки и панкреатодуоденального комплекса, тонкой кишки, легких – 991 870 руб.;
 - для трансплантации сердца, печени – 1 257 557 руб.;
 - для трансплантации комплекса «сердце–легкие» – 1 797 532 руб.
- (Постановление Правительства РФ от 28 декабря 2020 г. № 2299).

Донорство органов

В 2021 году донорские программы осуществлялись в 33 субъектах РФ.

В Пермском крае, Республике Саха (Якутия), Республике Бурятия выполнялись только трансплантации почки от живого родственного донора.

В 2021 году новые донорские программы открыты в 3 субъектах РФ:

- Республика Бурятия – донорство почки от живого родственного донора;
- Приморский край – донорство органов от посмертного донора;
- Ивановская область – донорство органов от посмертного донора.

Число эффективных посмертных доноров в 2021 г. составило 652, или 4,5 на 1 млн населения (табл. 3).

Число эффективных посмертных доноров в РФ по сравнению с 2020 годом увеличилось на 15,6% (+88). Темп увеличения донорской активности в РФ в 2021 году оказался выше на 17,3% запланированного в ведомственной целевой программе «Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации», утвержденной приказом Минздрава России от 4 июня 2019 г. № 365.

Доля эффективных посмертных доноров органов старше 60 лет в 2021 г. составила 16,1% (рис. 4). Доля доноров-мужчин была 65,2%, доноров-женщин – 34,8%.

Донорская активность в расчете на численность населения регионов, реализующих донорские программы (95,5 млн), составила 6,8 на 1 млн населения (табл. 4, 5).

Наиболее высокий показатель донорской активности европейского уровня достигнут в Москве – 23,7 на 1 млн населения (в 2020 г. – 20,9). Еще в 2 субъектах РФ, а именно в Кемеровской области и Рязанской области, показатель донорской активности превысил 10,0 на 1 млн населения. В Рязанской области уровень донорской активности увеличился почти в

Таблица 3

Показатели, связанные с посмертным донорством органов в регионах РФ в 2021 г.

№ пп.	Регион	Центр координации органного донорства, 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 органов	в т. ч. заготовлено почек	Коэффициент количества органов / количество доноров	Процент заготовленных почек
					6	7	8	9	10	11	12	13				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
1	Москва	Московский координационный центр органного донорства, Москва (ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы»)	12,6	23	298	23,7	290	97,3	250	83,9	957	545	3,2	91,4		
2	Московская область	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва	7,7	13	36	4,7	35	97,2	32	88,9	128	68	3,6	94,4		
3	Белгородская область	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород	1,5	1	2	1,3	2	100,0	1	50,0	5	4	2,5	100,0		
4	Воронежская область	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж	2,3	3	3	1,3	3	100,0	1	33,3	8	6	2,7	100,0		

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
5	Тульская область	ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница», Тула	1,4	1	4	2,9	4	100,0	4	100,0	14	7	3,5	87,5
6	Рязанская область	ГБУ РО «Рязанская областная клиническая больница», Рязань, ЦФО	1,1	1	11	10,0	11	100,0	7	63,6	33	21	3,0	95,5
7	Ивановская область	ОБУЗ «Ивановская областная клиническая больница», Иваново	1,0	1	1	1,0	1	100,0	1	100,0	4	2	4,0	100,0
8	Краснодарский край	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	5,7	2	13	2,3	13	100,0	12	92,3	44	26	3,4	100,0
9	Волгоградская область	Филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Волгожий	2,5	2	10	4,0	10	100,0	4	40,0	26	19	2,6	95,0
10	Ростовская область	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	4,2	1	21	5,0	21	100,0	21	100,0	63	42	3,0	100,0
11	Ставропольский край	ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, СКФО	2,8	1	5	1,8	5	100,0	4	80,0	14	10	2,8	100,0
12	Санкт-Петербург	Центр органного и тканевого донорства, Санкт-Петербург (ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе»)	5,4	5	25	4,6	25	100,0	25	100,0	84	44	3,4	88,0
13	Ленинградская область	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург	1,9	1	12	6,3	12	100,0	9	75,0	35	22	2,9	91,7

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
14	Архангельская область	ГБУЗ Архангельской области «Первая ГКБ им. Е.Е. Волосевич», Архангельск, СЗФО	1,1	1	1	0,9	1	100,0	0	0,0	4	2	4,0	100,0
15	Новосибирская область	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	2,8	4	15	5,4	14	93,3	13	86,7	39	21	2,6	70,0
16	Кемеровская область	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово	2,6	15	28	10,8	18	64,3	15	53,6	74	52	2,6	92,9
17	Иркутская область	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск	2,4	1	8	3,3	8	100,0	7	87,5	18	11	2,3	68,8
18	Алтайский край	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул	2,3	1	7	3,0	7	100,0	6	85,7	20	14	2,9	100,0
19	Красноярский край	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск	2,9	12	12	4,1	12	100,0	10	83,3	32	18	2,7	75,0
20	Свердловская область	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург	4,3	2	14	3,3	14	100,0	12	85,7	41	27	2,9	96,4
21	Челябинская область	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск	3,4	1	3	0,9	3	100,0	2	66,7	10	6	3,3	100,0
22	Тюменская область	ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень	1,5	3	8	5,3	8	100,0	4	50,0	21	14	2,6	87,5
23	Ханты-Мансийский автономный округ – Югра	БУ «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск	1,7	1	2	1,2	2	100,0	2	100,0	7	4	3,5	100,0

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
24	Самарская область	ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара	3,1	4	24	7,7	18	75,0	3	12,5	48	47	2,0	97,9
25	Саратовская область	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов	2,4	1	6	2,5	6	100,0	4	66,7	16	12	2,7	100,0
26	Нижегородская область	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород	3,2	3	7	2,2	7	100,0	6	85,7	18	11	2,6	78,6
27	Республика Татарстан	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	3,9	2	35	9,0	35	100,0	32	91,4	84	51	2,4	72,9
28	Республика Башкортостан	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Кувазова», Уфа	4,0	6	21	5,3	21	100,0	12	57,1	55	40	2,6	95,2
29	Оренбургская область	МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург	1,9	1	4	2,1	4	100,0	4	100,0	12	8	3,0	100,0
30	Приморский край	ГБУЗ «Приморская краевая клиническая больница № 1», Владивосток	1,9	1	3	1,6	3	100,0	0	0,0	6	6	2,0	100,0
31	Ведомственная программа ФМБА России	ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва	–	1	3	–	3	100,0	3	100,0	13	6	4,3	100,0
32	Ведомственная программа ФМБА РФ	ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», Красноярск	–	4	10	–	10	100,0	5	50,0	23	17	2,3	85,0
		Всего	146,2	119	652	4,5	626	96,0	511	78,4	1956	1183	3,0	90,7

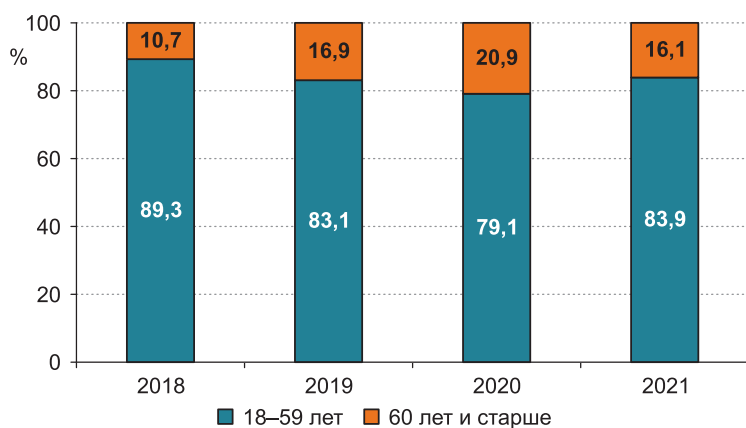


Рис. 4. Возрастная структура эффективных доноров органов в 2018–2021 гг.

2 раза – с 5,5 на 1 млн населения до 10,8, аналогично следует отметить существенное увеличение уровня донорской активности в Республике Татарстан – с 5,4 до 9,0 эффективных посмертных доноров на 1 млн населения.

Падение донорской активности в 2021 году наблюдалось в Иркутской области – с 6,7 до 3,3 – и в Ставропольском крае – с 4,6 до 1,8 эффективных посмертных доноров на 1 млн населения.

На долю Москвы и Московской области в 2021 г. приходится 51,2% (334) эффективных доноров.

Число эффективных доноров с диагнозом «смерть мозга» составило 626, их доля в общем пуле эффективных доноров составила 96,0%, рис. 5.

Все донорские программы используют протокол диагностики смерти человека на основании диагноза «смерть мозга», в 25 субъектах РФ донорские программы работали только с донорами с диагнозом «смерть мозга».

В 2021 году всего было выполнено 511 мультиорганных изъятий, доля мультиорганных изъятий от общего числа изъятий (652) составила 78,4%. По сравнению с 2020 г. число мультиорганных изъятий увеличилось на 21,4% (+90). 18 донорских программ работали с долей мультиорганных изъятий (более 70%), причем 6 из них с результатом 100%: Тульская область, Ивановская область, Ростовская область, Санкт-Петербург, ХМАО – Югра, Оренбургская область.

Вклад донорских программ Москвы и Московской области по числу мультиорганных доноров в 2021 году составил 282, или 55,2% от общего числа мультиорганных доноров в стране.

Среднее количество органов, полученное от одного донора, в 2021 г. составило 3,0 (в 2020 г. – 2,9). Лучшие значения этого показателя наблюдались, как и прежде, в регионах, где проводится трансплантация экстраренальных органов и(или) осуществляется межрегиональная координация: Московская

Таблица 4

Рейтинг регионов по донорской активности в 2021 году

Субъект РФ (Регион)	Насе- ление в 2020 г., млн	Число эффективных доноров на 1 млн населения		Рейтинг		Изм. № в рей- тинге
		2021 г.	2020 г.	2021 г.	2020 г.	
Москва	12,6	23,7	20,9	1	1	–
Кемеровская область	2,7	10,8	10,0	2	2	–
Рязанская область	1,1	10,0	5,5	3	6	+3
Республика Татарстан	3,9	9,0	5,4	4	8	+4
Самарская область	3,2	7,7	7,5	5	3	–2
Ленинградская область	1,8	6,3	6,1	6	5	–1
Новосибирская область	2,8	5,4	5,4	7	7	–
Республика Башкортостан	4,1	5,3	4,4	8	11	+3
Тюменская область	1,5	5,3	3,3	9	16	+7
Ростовская область	4,2	5,0	4,3	10	12	+2
Московская область	7,7	4,7	2,8	11	17	+6
Санкт-Петербург	5,4	4,6	4,6	12	9	–3
Красноярский край*	2,9	4,1	3,4	13	15	–2
Волгоградская область	2,5	4,0	4,0	14	13	–1
Иркутская область	2,4	3,3	6,7	15	4	–11
Свердловская область	4,3	3,3	1,4	16	23	+7
Алтайский край	2,3	3,0	3,9	17	14	–3
Тульская область	1,4	2,9	2,0	18	19	+1
Саратовская область	2,4	2,5	0,0	19	29	+10
Краснодарский край	5,6	2,3	2,3	20	18	–2
Нижегородская область	3,2	2,2	1,6	21	22	+1
Оренбургская область	1,9	2,1	0,5	22	28	+6
Ставропольский край	2,8	1,8	4,6	23	10	–13
Приморский край	1,9	1,6	0,0	24	–	+9
Белгородская область	1,5	1,3	1,3	25	24	–1
Воронежская область	2,3	1,3	1,7	26	21	–5
ХМАО – Югра	1,7	1,2	1,8	27	20	–7
Ивановская область	1,0	1,0	0,0	28	–	+9
Архангельская область	1,1	0,9	0,9	29	26	–3
Челябинская область	3,5	0,9	0,9	30	27	–3
Омская область	1,9	0,0	1,1	31	25	–6
Республика Саха (Якутия)	1,0	0,0	0,0	32	30	–2
Россия (85 субъектов РФ)	146,2	4,5	3,9		–	

* – Без учета донорской программы ФСКНЦ ФМБА, Красноярск.

Динамика числа посмертных доноров органов в период 2006–2021 гг.

№ п/п	Регион	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		2021	
		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.)	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.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
1	Москва	87	126	+39	135	+9	136	+1	151	+15	135	-16	111	-24	125	+14	151	+26	142	-9	183	+41	195	+12	218	+23	277	+59	263	-14	298	+35	
2	Московская область	24	45	+21	59	+14	52	-7	71	+19	82	+11	61	-21	56	-5	51	-5	44	-7	39	-5	75	+36	68	-7	41	-27	21	-20	36	+15	
3	Белгородская область		2	+2	3	+1	2	-1	5	+3	6	+1	3	-3	1	-2	2	+1	5	+3	4	-1	4	0	4	0	4	0	2	-2	2	0	
4	Воронежская область	6	2	-4	8	+6	2	-6	0	-2	1	+1	6	+5	6	0	5	-1	7	+2	4	-3	1	-3	8	+7	8	0	4	-4	3	-1	
5	Тульская область																										2	+2	3	+1	4	+1	
6	Рязанская область																								2	+2	13	+11	6	-7	11	+5	
7	Ивановская область																														1	+1	
8	Краснодарский край						3	+3	39	+36	52	+13	42	-10	41	-1	23	-18	25	+2	24	-1	19	-5	20	+1	23	+3	13	-10	13	0	
9	Волгоградская область	5	0	-5	11	+11	15	+4	16	+1	17	+1	19	+2	15	-2	18	+3	8	-10	8	0	9	+1	9	0	10	+1	10	0	10	0	
10	Ростовская область																		1	+1	7	+6	13	+6	19	+6	21	+2	18	-3	21	+3	
11	Ставропольский край																									2	+2	3	+1	13	+10	5	-8
12	Санкт-Петербург	30	45	+15	47	+2	47	0	41	-6	34	-7	22	-12	13	-9	23	+10	31	+8	29	-2	31	+2	34	+3	53	+19	25	-28	25	0	
13	Ленинградская область	12	8	-4	11	+3	11	0	13	+2	10	-3	10	0	10	0	9	-1	7	-2	12	+5	11	-1	15	+4	7	-8	11	+4	12	+1	
14	Архангельская область																									5	+5	5	0	1	-4	1	0

Окончание табл. 5

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
15	Новосибирская область	17	11	-6	18	+7	29	+11	35	+6	25	-10	20	-4	17	-3	11	-6	14	+3	9	-5	14	+5	17	+3	23	+6	15	-8	15	0	
16	Кемеровская область	16	13	-3	18	+5	18	0	22	+4	12	-10	26	+14	26	0	31	+5	28	-3	34	+6	22	-12	30	+8	40	+10	27	-13	28	+1	
17	Иркутская область				4	+4	6	+2	10	+4	9	-1	8	-1	6	-2	9	+3	4	-5	3	-1	2	-1	7	+5	16	+9	16	0	8	-8	
18	Омская область	10	15	+5	13	-2	19	+6	19	0	14	-5	11	-3	14	+3	16	+2	11	-5	4	-7	4	0	3	-1	2	-1	2	0	0	-2	
19	Алтайский край														3	+3	5	+2	4	-1	4	0	8	+4	8	0	8	0	9	+1	7	-2	
20	Красноярский край															3		3	+3	6	+3	6	0	27	+9	16	прим.	13	-3	10	-3	12	+2
21	Свердловская область	14	13	-1	12	-1	13	+1	14	+1	15	+1	14	-1	18	+4	23	+5	18	-5	15	-3	22	+7	24	+2	24	0	6	-18	14	+8	
22	Челябинская область								6	+6	2	-4	7	+5	6	-1	10	+4	9	-1	11	+2	8	-3	4	-4	4	0	3	-1	3	0	
23	Тюменская область																						4	+4	13	+9	13	0	5	-8	8	+3	
24	ХМАО – Югра																						3	+3	4	+1	5	+1	3	-2	2	-1	
25	Самарская область	4	17	+13	24	+7	18	-6	20	+2	21	+1	19	-2	21	+2	20	-1	18	-2	26	+8	28	+2	23	-5	25	+2	24	-1	24	0	
26	Саратовская область														4	+4	7	+3	7	0	7	0	7	0	8	+1	10	+2	0	-10	6	+6	
27	Нижегородская область						7	+7	11	+4	12	+1	10	-2	8	-2	12	+4	10	-2	11	+1	10	-1	12	+2	12	0	5	-7	7	+2	
28	Республика Татарстан	3	+3	1	-2	3	+2	3	+2	12	+9	16	+4	9	+7	6	-3	6	0	4	-2	1	-3	3	+2	4	+1	15	+11	21	+6	35	+14
29	Республика Башкортостан								2	+2	7	+5	14	+7	18	+4	19	+1	14	+5	20	+6	22	+2	20	-2	24	+4	18	-6	21	+3	
30	Оренбургская область																	3	+3	8	+5	9	+1	8	-1	11	+3	1	-10	4	+3		
31	Республика Саха (Якутия)																				2	+2	4	+2	4	0	3	-1	0	-3	0	0	
32	Приморский край																														3	+3	
33	ФМБА, Москва														6	+6	11	+5	14	+3	16	+2	9	-7	5	-4	1	-4	1	0	3	+2	
34	ФМБА, Красноярск																									24	прим.	16	-8	8	-8	10	+2
	ИТОГО в РФ	225	300	+75	364	+64	381	+17	487	+106	470	-17	412	-58	420	+8	465	+45	434	-31	487	+53	564	+78	639	+74	732	+93	564	-168	652	+88	

Примечание. Донорская активность ФСКНЦ ФМБА, Красноярск, представлена в виде отдельной программы.

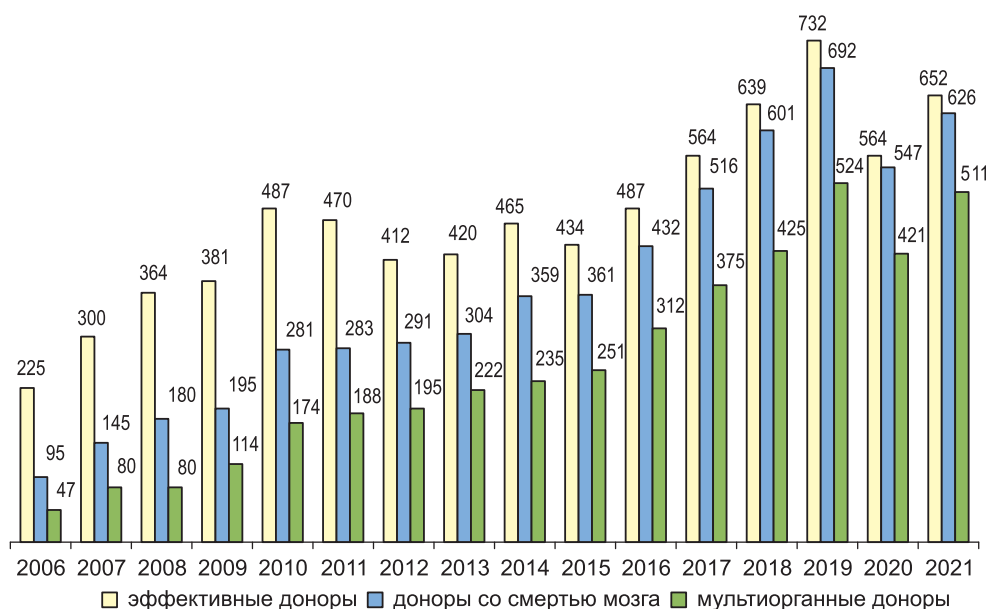


Рис. 5. Структура эффективных доноров органов в РФ в 2006–2021 гг.

область (3,6); Тульская область (3,5), ХМАО – Югра (3,5), Санкт-Петербург (3,4), Москва (3,2), Рязанская область (3,0), Ростовская область (3,0).

В 2021 г. показатель использования донорских почек превысил 90,0% и составил 90,7%. В 22 регионах этот показатель находился в оптимальном диапазоне значений 90–100%, в 3 регионах между 80–90% и в 5 программах составил менее 80%. По данному показателю от других регионов отстают: Иркутская область (68,8%), Новосибирская область (70%), Республика Татарстан (72,9%).

В 2021 году число изъятий органов у живых родственных доноров составило 364, или 35,8% от общего числа изъятий 1016.

Трансплантация почки

В 2021 году всего было выполнено 1384 трансплантации почки (9,5 на 1 млн населения), рис. 6.

По сравнению с 2020 г. число трансплантаций почки увеличилось на 23,1% (+260).

Новые программы трансплантации почки были открыты в Республике Бурятия (Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко, Улан-Удэ); в Приморском крае (Приморская краевая клиническая больница № 1, Владивосток); в Ивановской области (Ивановская областная клиническая больница, Иваново).

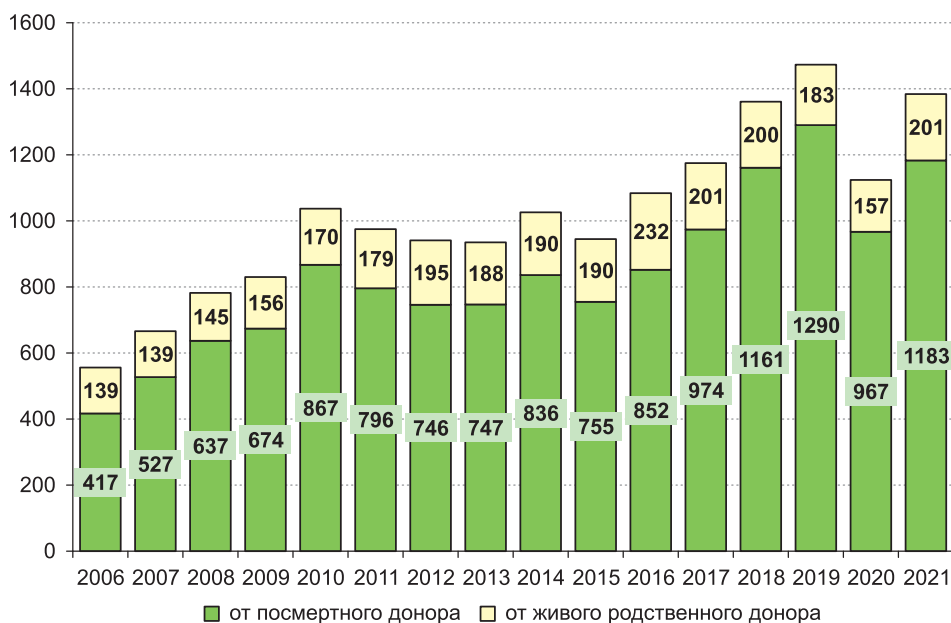


Рис. 6. Трансплантация почки в РФ в 2006–2021 гг.

Число трансплантаций почки от посмертного донора в 2021 г. составило 1183, или 8,1 на 1 млн населения. Число трансплантаций почки от живого родственного донора составило 201, или 1,4 на 1 млн населения (рис. 6).

В табл. 6 и на рис. 7 представлены центры трансплантации почки, в которых было сделано наибольшее число пересадок почки по итогам 2021 года.

Рейтинг прежде всего демонстрирует лидерство и устойчивость трансплантационных программ ведущих центров трансплантации в столице, что, в свою очередь, является следствием эффективной работы Московского координационного центра органного донорства. Следует отметить положительную динамику развития трансплантационных программ Республики Татарстан и Кемеровской области, устойчивость и объемы программ трансплантации почки в Самарской области, в Республике Башкортостан и Московской области, дальнейшее развитие программы трансплантации почки детям в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва) и РДКБ (Москва). Ведущая роль программы трансплантации почки от живого родственного донора принадлежит НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва) – 114 пересадок (56,7% от общего числа пересадок родственной почки в РФ).

В 2021 г. 6 центров трансплантации почки выполнили более 50 операций за год – это НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (311), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (231), ГКБ им. С.П. Боткина (87), Республиканская клиническая больница, Казань (52), Кемеровская ОКБ им. С.В. Беляева (51), НИИ урологии (51). От 30 до 49 операций за год сделали 5 центров, еще 12 центров выполнили от 15 до 29.

Таблица 6

**Медицинские организации –
лидеры по числу трансплантаций почки**

Ранг	Центры – лидеры по числу трансплантаций почки	Число пересадок почки в 2021 г.
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва	283
2	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва	231
3	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва	87
4	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	52
5	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово	51
6	«Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» МЗ РФ, Москва	51
7	ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара	47
8	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа	40
9	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область	40
10	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва	40
	ИТОГО	922
	66,6% от общего числа пересадок почки в РФ (1384)	

В 2021 году 21 центр выполнял родственные трансплантации почки, всего была проведена 201 трансплантация. Средняя частота использования прижизненного донорства почки в 2021 г. составила 14,5% от общего числа трансплантаций почки (в 2020 г. – 13,4%).

Трансплантации почки детям (несовершеннолетним) в 2021 г. выполнялись в 6 центрах, всего было проведено 122 пересадки почки (2020 г. – 121), в том числе в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (61), в РДКБ (40), в НМИЦ здоровья детей (15), рис. 8.

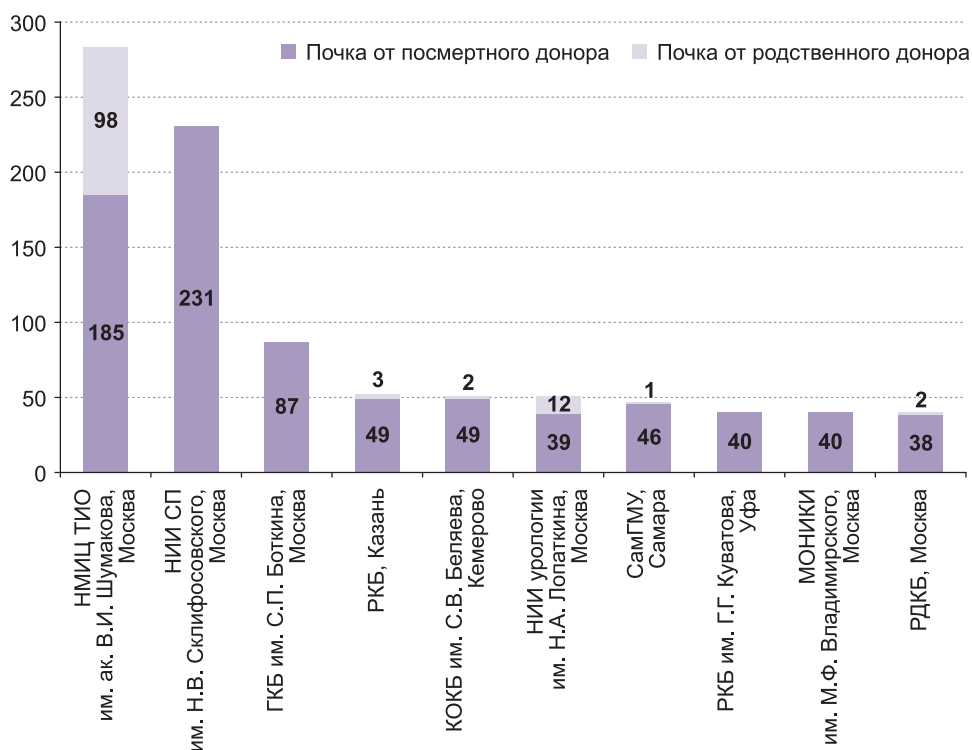


Рис. 7. Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций почки

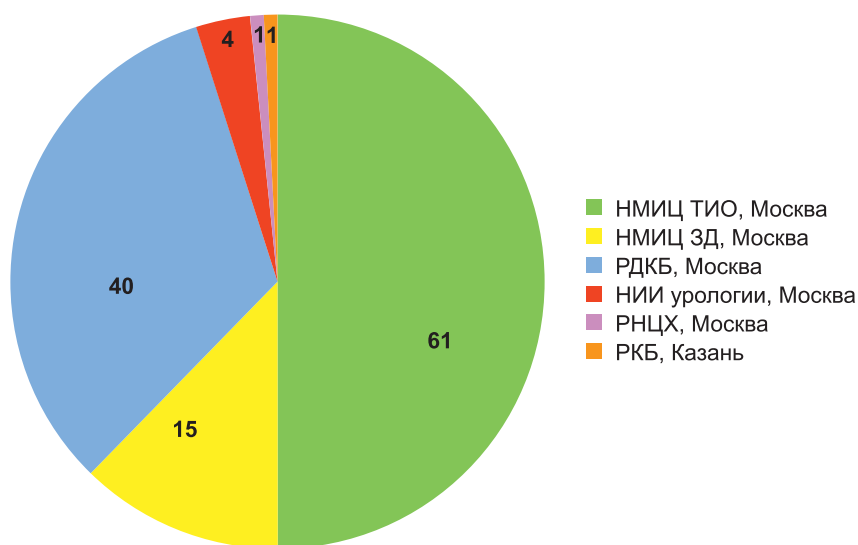


Рис. 8. Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в РФ в 2021 году

Трансплантация экстраренальных органов

В 2021 г. было выполнено 290 трансплантаций сердца (2,0 на 1 млн населения), из них 15 пересадок детям (несовершеннолетним), и 2 пересадки комплекса «сердце–легкие» (в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова).

Трансплантации сердца выполнялись в 17 центрах. Новые программы трансплантации сердца открыты в 2 субъектах РФ:

- в Тюменской области (Областная клиническая больница № 1, Тюмень);
- в ХМАО – Югре (Окружная клиническая больница, Ханты-Мансийск).

На долю НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва) приходится 72,9% (213, включая 2 сердечно-легочных комплекса) от общего числа трансплантаций сердца в РФ. Программа трансплантации сердца в этом центре продолжает определять уровень доступности данного вида трансплантационной помощи в стране. Кроме НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова, более 10 трансплантаций сердца в РФ выполняется только в НМИЦ им. В.А. Алмазова (22). Еще 5 центров трансплантации выполнили от 5 до 8 трансплантаций сердца: НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (Москва), ККБ № 1 Очаповского (Краснодар), РОКБ (Ростов-на-Дону), НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск), РКБ (Уфа). Остальные 10 (50,0%) выполнили менее 5 трансплантаций сердца за год.

Трансплантации легких в 2021 г. выполнялись в 3 центрах трансплантации, всего было выполнено 13 пересадок легких и 2 пересадки комплекса «сердце–легкие»: в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова – 9 пересадок легких и 2 комплекса, в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского – 3 пересадки легких, СПГМУ им. ак. И.П. Павлова (Санкт-Петербург) – 1.

В табл. 7 и на рис. 9 представлены центры трансплантации торакальных органов, в которых было сделано наибольшее число пересадок сердца и легких по итогам 2021 года.

В 2021 г. всего было выполнено 618 трансплантаций печени (4,2 на 1 млн населения), из них 134 пересадки детям (несовершеннолетним). Для сравнения: в 2020 г. в стране было выполнено 559 пересадок печени (3,8 на 1 млн населения), из них 131 трансплантация детям.

Трансплантации печени выполнялись в 29 центрах. В 2021 г. была открыта новая программа трансплантации печени – в ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ» сделано 6 пересадок печени от посмертного донора. В РКБ Казани число пересадок печени увеличилось до 28 (с 2019 г. в 2 раза).

В России 2 центра трансплантации выполняют более 100 пересадок печени в год – НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (181) и НИИСП им. Н.В. Склифосовского (122). Еще 4 центра трансплантации выполнили

Таблица 7

Медицинские организации, осуществившие 5 и более трансплантаций сердца

Ранг	Центры, осуществившие 5 и более трансплантаций сердца	Число пересадок сердца в 2021 г.
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва	213
2	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург	22
3	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск	8
4	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	8
5	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	7
6	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва	5
7	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа	5
	ИТОГО	268
	92,4% от общего числа пересадок сердца в РФ (290)	

20 и более пересадок печени каждый: ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Буназьяна (41), ГНОКБ (47), ГКБ им. С.П. Боткина (40); РКБ, Казань (28).

Доля центров трансплантации Москвы и Московской области (8) в трансплантации печени в 2021 г. составила 67,5% (417 пересадок); в 2020 г. – 69,8% (390 пересадок).

В табл. 8 и на рис. 10 представлены центры трансплантации печени, в которых было сделано наибольшее число пересадок печени по итогам 2021 года.

Рейтинг демонстрирует лидерство и устойчивость трансплантационных программ ведущих центров трансплантации в столице, что является следствием эффективной работы Московского координационного центра органного донорства и использования технологии пересадки части печени от живого родственного донора. Следует отметить положительную динамику развития трансплантационных программ Республики Татарстан и Новосибирской области; ведущую роль педиатрической программы трансплантации печени от живого родственного донора в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва), эффективность которой (100 пересадок) превышает число трансплантаций печени в 8 из 10 центров трансплантации, представленных в данном рейтинге.

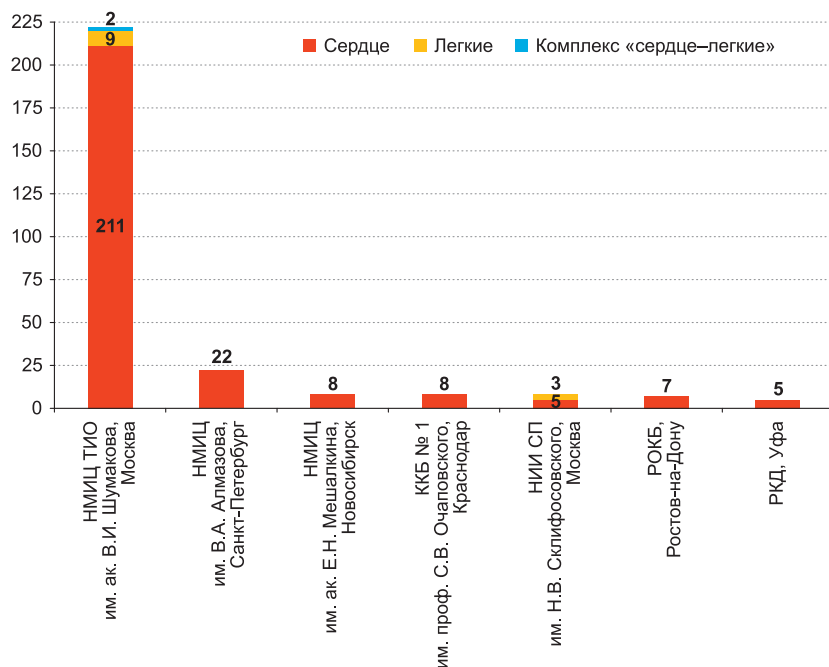


Рис. 9. Медицинские организации, осуществившие 5 и более трансплантаций сердца

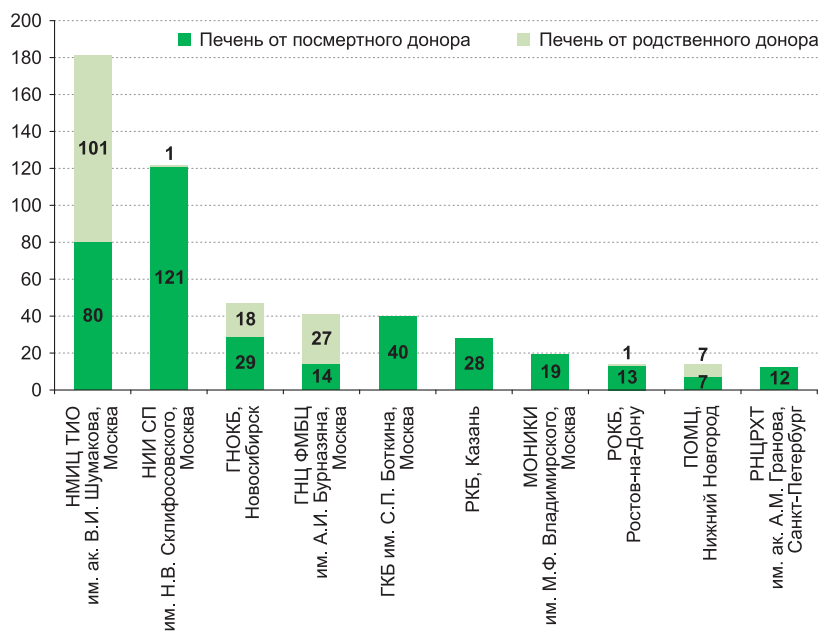


Рис. 10. Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций печени

Таблица 8

**Медицинские организации – лидеры
по числу трансплантаций печени**

Ранг	Центры – лидеры по числу трансплантаций печени	Число пересадок печени в 2021 г.
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва	181
2	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва	122
3	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	47
4	ФГБУ «Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва	41
5	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва	40
6	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	28
7	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область	19
8	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	14
9	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород	14
10	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ, Санкт-Петербург	12
	ИТОГО	518
	83,8% от общего числа пересадок печени в РФ (618)	

Родственные трансплантации печени осуществлялись в 7 центрах, доля трансплантаций от живых родственных доноров составила 163 (26,4%). В 2020 г. было 9 центров, которые выполнили 169 родственных пересадок печени (30,2%).

В 2021 г. были выполнены 134 пересадки печени детям (в основном раннего возраста); в 2020 г. – 131. Трансплантации печени детям выполнялись в 4 центрах: НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (119), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (8), ГНОКБ (6) и ВМА им. С.М. Кирова (1). В ВМА им. С.М. Кирова трансплантация печени ребенку была сделана впервые.

Трансплантации поджелудочной железы в 2021 г. осуществлялись в 3 центрах трансплантации: НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (7), НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (2), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (1). Всего было сделано 10 пересадок поджелудочной железы (в 2020 г. – 16), все в комплексе с почкой.

В НИИ СП им. Н.В. Склифосовского выполнена 1 трансплантация тонкой кишки.

Таким образом, число экстраренальных трансплантаций в 2021 г. составило 934, или 40,3% от общего числа трансплантаций 2318 (в 2020 г. 836, или 42,6%). За период наблюдения с 2006 г. (106) число трансплантаций экстраренальных органов в РФ увеличилось на 828 (в 8,8 раза), рис. 11. Вклад центров трансплантации Москвы и Московской области в трансплантацию экстраренальных органов остается определяющим и в 2021 г. составил 663 пересадки (71,0%).

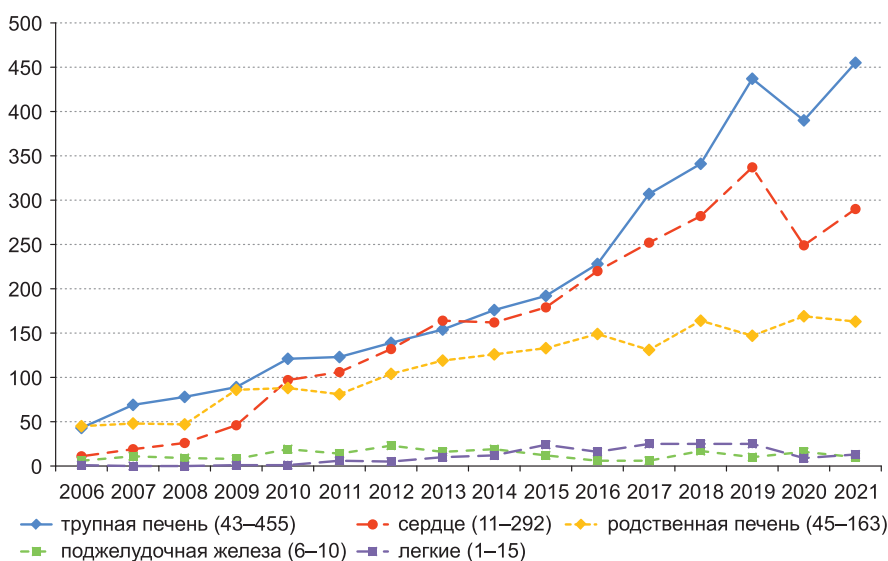


Рис. 11. Трансплантация экстраренальных органов в 2006–2021 гг.

В табл. 9 представлены данные о динамике числа трансплантаций органов в РФ за 2006–2021 гг.

Пациенты с трансплантированными органами

Согласно данным Федерального регистра в РФ, на декабрь 2021 г. было 20 724 пациента с трансплантированными органами (141,7 на 1 млн населения), табл. 10.

За 8 лет наблюдений число пациентов с трансплантированными органами в РФ увеличилось на 12 171 (142,3%). Число пациентов с транс-

Трансплантация органов в России в период 2006–2021 гг.

№ пп.	Орган	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020		2021	
		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	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	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год		
1	Почка всего	556	+110	782	+116	830	+48	1037	+48	1037	+207	975	-62	941	-34	935	-6	1026	+91	945	-81	1084	+139	1175	+91	1361	+186	1473	+112	1124	-349	1384	+258
2	в том числе тулунская оп	417	+110	637	+110	666	+29	867	+201	796	-71	746	-50	747	+1	836	+89	755	-81	852	+97	974	+122	1161	+187	1290	+129	967	-323	1183	+216		
3	живого росто-венного донора	139	139	0	145	+6	156	+11	170	+14	179	+9	195	+16	188	-7	190	+2	190	0	232	+42	201	-31	200	-1	183	-17	157	-26	201	+44	
4	Печень всего	88	+117	125	+8	175	+50	209	+34	204	-5	243	+39	272	+29	302	+30	325	+23	378	+53	438	+60	505	+67	584	+79	559	-25	618	+59		
5	в том числе тулунская оп	43	+26	78	+9	89	+11	121	+32	123	+2	139	+16	154	+15	176	+22	192	+16	229	+37	307	+78	341	+34	437	+96	390	-47	455	+65		
6	живого росто-венного донора	45	+48	+3	47	-1	86	+39	88	+2	81	-7	104	+23	119	+15	126	+7	133	+7	149	+16	131	-18	164	+33	147	-17	169	+22	163	-6	
7	Сердце	11	+19	+8	26	+7	46	+20	97	+51	106	+9	132	+26	164	+32	162	-2	179	+17	220	+41	252	32	282	+30	335	+53	249	-86	290	+41	
8	Поджелудочная железа	6	+11	+5	9	-2	8	-1	19	+11	14	-5	23	+9	14	-9	19	+5	12	-7	6	-6	6	0	17	+11	10	-7	16	+6	10	-6	
9	Легкие	1	0	-1	0	0	1	+1	1	0	6	+5	5	-1	10	+5	12	+2	14	+2	16	+2	25	+9	25	0	23	-2	9	-14	13	+4	
10	Комп-лексе «сердце-легкие»										2	+2	2	0	1	-1	0	-1	0	0	0	0	0	0	3	+3	2	-1	2	0	2	0	
11	Тонкая кишка																																
	Всего	662	+151	942	+129	1060	+118	1363	+303	1307	-56	1345	+38	1400	+55	1522	+122	1485	-37	1704	+219	1896	+192	2193	+297	2427	+234	1960	-467	2318	+358		

Таблица 10

Число пациентов с трансплантированными органами в РФ в 2013–2021 гг.

Код МКБ-Х	Число пациентов в регистре, чел.																
	2013 г.	2014 г.		2015 г.		2016 г.		2017 г.		2018 г.		2019 г.		2020 г.		2021 г.*	
		абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)
Z94.0 Наличие трансплан­тиро­ванной почки	6651	7502	12,8	8164	8,8	9063	11,0	9658	6,6	10851	12,4	11880	9,5	12563	5,7	13059	–
Z94.1 Наличие трансплан­тиро­ванного сердца	416	520	25,0	639	22,9	803	25,7	952	18,6	1164	22,3	1355	16,4	1524	12,5	1725	–
Z94.2 Наличие трансплан­тиро­ванного легкого	2	3	50,0	4	33,3	5	25,0	8	60,0	28	250,0	26	–7,1	24	–7,7	–	–
Z94.4 Наличие трансплан­тиро­ванной печени	1150	1406	22,3	1649	17,3	1948	18,1	2152	10,5	2632	22,3	3032	15,2	3489	15,1	3902	–
Z94.8 Наличие других транс­план­тированных органов и тка­ней (костного мозга, кишечни­ка, поджелудоч­ной железы)	334	467	39,8	654	40,0	808	23,5	909	12,5	1135	24,9	1344	18,4	1497	11,4	–	–
ИТОГО	8553	9898	15,7	11 110	12,2	12 627	13,7	13 679	8,3	15 810	15,6	17 637	11,6	19 097	8,3	20 724	8,5

* – Общее число пациентов с трансплантированными органами представлено из Регистра 14ВЗН, число пациентов с трансплантированной почкой, печенью и сердцем оценочное, так как рассчитано от значения предыдущего года на основании данных о числе трансплантаций органов в 2021 году и данных о средней выживаемости пациентов.

плантированной почкой оценивается в 13 059 чел. (89,3 на 1 млн); после пересадки печени – 3902 (26,7 на 1 млн); после пересадки сердца – 1725 (11,8 на 1 млн).

Заключение

В 2021 году донорские и трансплантационные программы по-прежнему находились под давлением фактора эпидемии коронавирусной инфекции COVID-19. При этом опыт работы в условиях эпидемии, полученный медицинскими организациями в 2020 году, массовая вакцинация населения и установка на обеспечение населения плановой медицинской помощью в соответствии с программой государственных гарантий позволили не только сохранить объемы трансплантационной помощи, но и существенно отыграть падение 2020 года и приблизиться к уровню 2019 года.

При этом в Москве уровень донорства превысил показатель «доковидного» 2019 года (22,0) и составил 23,7 на 1 млн населения, что позволило МКЦОД обеспечить донорским материалом 10 центров трансплантации, работающих на территории Москвы, для выполнения 957 трансплантаций.

Темп увеличения числа эффективных доноров и числа трансплантаций органов по итогам 2021 года оказался выше предусмотренного в ведомственной целевой программе «Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации», утвержденной приказом Минздрава России от 4 июня 2019 г. № 365.

В 2021 году было открыто 7 новых программ донорства и трансплантации органов:

- ГАУЗ «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко, Улан-Удэ (трансплантация почки от живого родственного донора);
- ГБУЗ «Приморская краевая клиническая больница № 1», Владивосток (трансплантация почки от посмертного донора);
- ОБУЗ «Ивановская областная клиническая больница», Иваново (трансплантация почки от посмертного донора);
- ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова ДЗМ» (программа трансплантации печени);
- ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень (программа трансплантации сердца);
- БУ «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск (программа трансплантации сердца);
- ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург (программа трансплантации печени детям).

В 2021 году продолжилась тенденция к увеличению числа педиатрических трансплантаций, всего была выполнена 271 операция (2019 г. – 227, 2020 г. – 258). Потребность детей, нуждающихся в трансплантации

почки и в трансплантации печени, обеспечивается полностью и ограничивается лишь своевременным выявлением и направлением таких пациентов на лечение в центры трансплантации, то же в отношении подростков, нуждающихся в трансплантации сердца.

В 2021 году появилась возможность установки по программе государственных гарантий искусственного левого желудочка сердца детям, в том числе с малыми антропометрическими параметрами, с терминальной сердечной недостаточностью.

В 2021 году в стране было выполнено рекордное число трансплантаций печени – 618, из них 163 – от живого родственного донора.

Проявились предпосылки и планы по дальнейшему развитию донорских и трансплантационных программ в субъектах РФ:

- Кемеровская область – развитие программы трансплантации печени в Кемеровской областной клинической больнице им. С.В. Беляева;
- Рязанская и Тульская области – дальнейшее развитие донорства и трансплантации органов в регионе, межрегиональное взаимодействие;
- Республика Татарстан – развитие программы трансплантации сердца, повышение эффективности использования донорских почек;
- Самарская область – внедрение технологий трансплантации печени и сердца в клиниках СамГМУ, развитие программы трансплантации органов в Самарской областной клинической больнице им. В.Д. Середавина;
- Новосибирская область – актуализация региональной программы органного донорства;
- Санкт-Петербург – дальнейшее увеличение объемов трансплантационной помощи в соответствии с потребностью населения СЗФО, внедрение программы педиатрической трансплантации органов;
- Волгоградская область – внедрение технологии трансплантации сердца в Филиале НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова;
- Иркутская область – восстановление донорской и трансплантационной активности, внедрение технологии трансплантации сердца в Иркутской областной клинической больнице, повышение эффективности использования донорских почек;
- Свердловская область – дальнейшее увеличение объемов трансплантационной помощи в соответствии с потребностью населения;
- Саратовская область – перезагрузка донорской и трансплантационной программы, внедрение технологии трансплантации печени;
- Краснодарский край – восстановление донорской и трансплантационной активности в соответствии с реальной потребностью населения и донорским ресурсом;
- Челябинская область – повышение донорской и трансплантационной активности;

- Омская область – возобновление программы донорства и трансплантации почки в Омской городской клинической больнице № 1 им. Кабанова А.Н.;
- Ожидается старт новых программ донорства и трансплантации органов в Хабаровском крае, Курской области, Ярославской области.

Список литературы

1. Состояние органного донорства и трансплантации в России по итогам 2009 года // Трансплантология 2009: итоги и перспективы / Под ред. С.В. Готье. – Вып. I. – М.–Тверь: Триада, 2010. – С. 8–20.
2. Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 гг // Трансплантология: итоги и перспективы. Том II. 2010 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2011. – С. 18–32.
3. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 году (IV сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том III. 2011 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2012. – С. 14–37.
4. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2012 году (V сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том IV. 2012 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2013. – С. 8–28.
5. Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2013 году (VI сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том V. 2013 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2014. – С. 32–57.
6. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2014 году (VII сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том VI. 2014 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2015. – С. 44–75.
7. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2015 году (VIII сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том VII. 2015 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2016. – С. 38–71.
8. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2016 году (IX сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том VIII. 2016 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2017. – С. 33–66.
9. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2017 году (X сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том IX. 2017 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2018. – С. 26–63.
10. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2018 году (XI сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том X. 2018 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2019. – С. 26–63.

ского общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том X. 2018 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2019. – С. 46–85.

11. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2019 году (XII сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том XI. 2019 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2020. – С. 52–93.
12. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2020 году (XIII сообщение национального регистра Российского трансплантологического общества) // Трансплантология: итоги и перспективы. Том XII. 2020 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2021. – С. 22–63.

IV. ПОДГОТОВКА СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ

ПОДГОТОВКА СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ

Великий Д.А.

Развитие клинической трансплантологии, увеличение количества трансплантационных центров в нашей стране и достигнутые успехи в длительном выживании и реабилитации пациентов с трансплантированными органами требуют совершенствования подготовки медицинских специалистов, которая остается одним из приоритетных направлений деятельности ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Организационно-методическое руководство учреждениями по профилю оказания медицинской помощи «хирургия (трансплантация органов и(или) тканей человека)», в том числе в области подготовки медицинских кадров, является одной из функций Центра имени академика В.И. Шумакова в качестве Национального медицинского исследовательского центра. Подготовка врачей и научных работников для субъектов Российской Федерации осуществляется высококвалифицированными научными кадрами и медицинскими специалистами – докторами наук, с использованием новейшего высокотехнологичного оборудования.

В ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России на протяжении многих лет активно реализуются следующие образовательные программы высшего образования – программы ординатуры:

- 31.08.02 «Анестезиология-реаниматология»;
- 31.08.05 «Клиническая лабораторная диагностика»;
- 31.08.12 «Функциональная диагностика»;
- 31.08.36 «Кардиология»;
- 31.08.63 «Сердечно-сосудистая хирургия»;
- 31.08.67 «Хирургия».

В 2021 году общее количество реализуемых образовательных программ ординатуры увеличилось. Приказом Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки № 1116 от 09.08.2021 г. ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России получил право на осуществление образовательной деятельности по реализации образовательных программ высшего образования – программ ординатуры еще по шести специальностям:

- 31.08.09 «Рентгенология»;
- 31.08.11 «Ультразвуковая диагностика»;

- 31.08.19 «Педиатрия»;
- 31.08.49 «Терапия»;
- 31.08.62 «Рентгенэндоваскулярные диагностика и лечение»;
- 31.08.68 «Урология».

В рамках научных специальностей 3.1.14 «трансплантология и искусственные органы» и 3.1.15 «сердечно-сосудистая хирургия» проводится обучение по образовательным программам высшего образования – программам подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре. По окончании обучения в аспирантуре специалисты успешно защищают диссертационные работы.

Допуск к осуществлению медицинской деятельности по профилю оказания медицинской помощи «хирургия (трансплантация органов и(или) тканей человека)» имеют специалисты, прошедшие дополнительную подготовку по вопросам трансплантации органов и(или) тканей человека (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 567н

**Перечень программ дополнительного
профессионального образования, реализуемых
в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова»
Минздрава России**

№	Наименование программы повышения квалификации
1	Анестезиологические пособия и интенсивная терапия при трансплантации жизненно важных органов
2	Болезни почек, почечная недостаточность и заместительная почечная терапия
3	Донорство в клинической трансплантологии
4	Клиническая трансплантация печени
5	Клиническая трансплантация печени у детей
6	Клиническая трансплантация почки
7	Клиническая трансплантация сердца
8	Особенности функциональной диагностики трансплантированного сердца
9	Основы и техника экстракорпорального кровообращения
10	Основы трансплантологии и искусственных органов
11	Патологическая анатомия у больных после аллотрансплантации органов и имплантации искусственных органов
12	Трансплантационная иммунология и иммуносупрессия
13	Деятельность операционной медицинской сестры в клинической трансплантологии

от 31 октября 2012 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «хирургия (трансплантация органов и(или) тканей человека)». Подготовка специалистов по дополнительным профессиональным программам осуществляется в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России на следующих циклах повышения квалификации.

В общей сложности за период с 2017-го по 2021 г. в Центре по программам дополнительного профессионального образования прошли обучение более 1000 специалистов.

**V. РЕЗУЛЬТАТЫ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФГБУ
«НМИЦ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА
В.И. ШУМАКОВА»
МИНЗДРАВА РОССИИ**

**Патенты на изобретения и полезные модели
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
трансплантологии и искусственных органов
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, полученные в 2021 году**

Номер патента, свидетельства	Название
2740872	Подложка для исследования биологического образца методом сканирующей зондовой нанотомографии и способ ее получения [Текст] / Агапов И.И., Агапова О.И., Боброва М.М., Сафонова Л.А., Ефимов А.Е. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020124901; заявл. 27.07.2020; Госрегистр 21.01.2021, опубл. 21.01.2021, Бюл. 3. Срок действия 27.07.2040 г.
207911	Устройство управления потоком крови в экстракорпоральных системах вспомогательного кровообращения [Текст] / Иткин Г.П., Дробышев А.А., Бучнев А.С., Кулешов А.П., Носов М.С. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020131752; заявл. 28.09.2020; Госрегистр 21.01.2021, опубл. 21.01.2021, Бюл. 3. Срок действия 28.09.2030 г.
202952	Устройство управления потоком крови в имплантируемых системах вспомогательного кровообращения [Текст] / Иткин Г.П., Носов М.С., Кулешов А.П., Дробышев А.А., Бучнев А.С. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020131753; заявл. 28.09.2020; Госрегистр 16.03.2021, опубл. 16.03.2021, Бюл. 8. Срок действия 28.09.2030 г.

Номер патента, свидетельства	Название
2744846	Способ лечения острой печеночной недостаточности [Текст] / Онищенко Н.А., Никольская А.О., Гоникова З.З., Шагидулин М.Ю., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020119914; заявл. 16.06.2020; Госрегистр 16.03.2021, опубл. 16.03.2021, Бюл. 8. Срок действия 16.06.2040 г.
2739996	Способ коррекции хронической печеночной недостаточности [Текст] / Онищенко Н.А., Никольская А.О., Гоникова З.З., Шагидулин М.Ю., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020119915; заявл. 16.06.2020; Госрегистр 30.12.2020, опубл. 30.12.2020, Бюл. 1. Срок действия 16.06.2040 г.
2750973	Способ диагностики обструкции бронхов у реципиентов легочного трансплантата [Текст] / Шевченко О.П., Беков М.Т., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Олешкевич Д.О., Пашков И.В., Цирульникова О.М., Шарапченко С.О., Готье С.В. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020139199; заявл. 30.11.2020; Госрегистр 07.07.2021, опубл. 07.07.2021, Бюл. 19. Срок действия 30.11.2040 г.
2759048	Способ диагностики обструкции бронха у реципиента трансплантированных легких [Текст] / Шарапченко С.О., Беков М.Т., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Олешкевич Д.О., Пашков И.В., Цирульникова О.М., Шевченко О.П., Готье С.В. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020139201; заявл. 30.11.2020; Госрегистр 09.11.2021, опубл. 09.11.2021, Бюл. 31. Срок действия 30.11.2040 г.

Номер патента, свидетельства	Название
2758994	Способ диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов трансплантированного сердца [Текст] / Шевченко О.П., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Можейко Н.П., Марченко А.В., Шарапченко С.О., Шевченко А.О. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020142677; заявл. 23.12.2020; Госрегистр 08.11.2021, опубл. 08.11.2021, Бюл. 31. Срок действия 23.12.2040 г.
2758973	Способ диагностики острого отторжения трансплантата у реципиента трансплантированного сердца [Текст] / Великий Д.А., Гичкун О.Е., Шарапченко С.О., Можейко Н.П., Стаханова Е.А., Улыбышева А.А., Шевченко О.П., Шевченко А.О. Шевченко О.П. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020142678; заявл. 23.12.2020; Госрегистр 03.11.2021, опубл. 03.11.2021, Бюл. 31. Срок действия 23.12.2040 г.
2758993	Способ неинвазивной диагностики фиброза миокарда трансплантированного сердца [Текст] / Великий Д.А., Шарапченко С.О., Гичкун О.Е., Марченко А.В., Можейко Н.П., Улыбышева А.А., Шевченко А.О., Шевченко О.П. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2021108611; заявл. 30.03.2021; Госрегистр 08.11.2021, опубл. 08.11.2021, Бюл. 31. Срок действия 30.03.2041 г.
2759049	Способ диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов сердца [Текст] / Шарапченко С.О., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Можейко Н.П., Стаханова Е.А., Шевченко А.О., Шевченко О.П. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2021108610; заявл. 30.03.2021; Госрегистр 09.11.2021, опубл. 09.11.2021, Бюл. 31. Срок действия 30.03.2041 г.

Номер патента, свидетельства	Название
2760093	Способ неинвазивной диагностики фиброза миокарда у реципиентов сердечного трансплантата [Текст] / Шарапченко С.О., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Марченко А.В., Можейко Н.П., Шевченко А.О., Шевченко О.П., Готье С.В. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2021109885; заявл. 09.04.2021; Госрегистр 22.11.2021, опубл. 22.11.2021, Бюл. 33. Срок действия 09.04.2041 г.
2760195	Способ диагностики обструкции бронхов у реципиента легочного трансплантата [Текст] / Гичкун О.Е., Беков М.Т., Великий Д.А., Олешкевич Д.О., Пашков И.В., Цирульников О.М., Шарапченко С.О., Шевченко О.П., Готье С.В. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2020139200; заявл. 30.11.2020; Госрегистр 22.11.2021, опубл. 22.11.2021, Бюл. 33. Срок действия 30.11.2040 г.
2760470	Способ неинвазивной диагностики фиброза миокарда у реципиентов донорского сердца [Текст] / Шевченко О.П., Шарапченко С.О., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Колоскова Н.Н., Можейко Н.П., Стаханова Е.А., Шевченко А.О. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2021109884; заявл. 09.04.2021; Госрегистр 08.12.2021, опубл. 08.12.2021, Бюл. 34. Срок действия 09.04.2041 г.
2763416	Устройство и способ для механической поддержки лимфатической системы [Текст] / Иткин Г.П., Готье С.В., Бучнев А.С., Дробышев А.А., Кулешов А.П. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2021107668; заявл. 22.03.2021; Госрегистр 29.12.2021, опубл. 29.12.2021, Бюл. 1. Срок действия 23.03.2041 г.

Положительное решение о выдаче патента на изобретение на заявку, поданную в 2021 году

Номер заявки	Название
2021109883	Способ подбора режима иммуносупрессии детям раннего возраста в отдаленном периоде после трансплантации печени [Текст] / Курабекова Р.М., Цирульников О.М., Шевченко О.П., Пашкова И.Е., Гичкун О.Е., Бельченков А.А., Готье С.В. Заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2021107668; заявл. 22.03.2021

Международная патентная заявка, поданная в 2021 году

Номер и дата международной заявки	Название
PCT/RU2021/000285 02.07.2021	Устройство управления потоком крови в экстракорпоральных системах вспомогательного кровообращения (Device for controlling blood flow in extracorporeal circulatory support systems) / Иткин Г.П., Готье С.В., Кулешов А.П., Бучнев А.С., Дробышев А.А.

**VI. ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ
В НОВОЙ НОМЕНКЛАТУРЕ
НАУЧНЫХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ,
ПО КОТОРЫМ
ПРИСУЖДАЮТСЯ УЧЕННЫЕ
СТЕПЕНИ**

24 февраля 2021 г. приказом Минобрнауки России утверждена новая Номенклатура научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени. Приказ Минобрнауки России от 24.02.2021 № 118 вступил в силу 17 апреля 2021 г.

**Выписка из приказа Минобрнауки России
от 24 февраля 2021 г. № 118, касающаяся специальности
«Трансплантология и искусственные органы»**

Номенклатура научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, утвержденная приказом Минобрнауки России от 23 октября 2017 года № 1027 (ранее действующая)	Номенклатура научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, утвержденная приказом Минобрнауки России от 24 февраля 2021 г. № 118
14.01.24 – трансплантология и искусственные органы (медицинские науки, биологические науки)	3.1.14 – трансплантология и искусственные органы (медицинские науки, биологические науки)

**VII. ПЕРЕЧЕНЬ ДЕЙСТВУЮЩИХ
ДИССЕРТАЦИОННЫХ СОВЕТОВ
по защите докторских
и кандидатских диссертаций
по специальности
«трансплантология
и искусственные органы»
с указанием диссертационных
работ, защищенных в 2021 г.**

ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ ДСТИО 001.21

при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России.

Полномочия совета утверждены распоряжением Правительства Российской Федерации от 31 августа 2020 года и подтверждены приказом Министерства науки и высшего образования РФ от 11 ноября 2020 г. № 1398.

Номенклатура научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, утвержденная приказом Минобрнауки России от 24 февраля 2021 г. № 118:

3.1.14 – трансплантология и искусственные органы (медицинские науки, биологические науки).

В диссертационном совете ДСТИО 001.21 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России по специальности **«трансплантология и искусственные органы»** защищены 1 диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук, 1 диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук, 8 диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук и 2 диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Кострыкин Михаил Юрьевич

«Разработка и обоснование стратегии листа ожидания трансплантации печени»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научные консультанты: д. м. н. Цирульникова О.М., д. м. н. Коробка В.Л.

Басок Юлия Борисовна

«Экспериментальные подходы к регенерации и тканевой инженерии суставного хряща с использованием клеточно-инженерных конструкций»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук.
Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Гаджиева Патимат Магомедовна

«Профилактика цитомегаловирусной инфекции у детей после трансплантации почки»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.
Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: д. м. н. Цирульникова О.М.

Грудинин Никита Владимирович

«Нормотермическая машинная *ex vivo* перфузия донорских легких в условиях эксперимента»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.
Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: академик РАН, д. м. н., профессор Готье С.В.

Золотова Елизавета Николаевна

«Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом 2-го типа»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.
Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: д. м. н., профессор Попцов В.Н.

Мещеряков Сергей Владимирович

«Трансплантация печени детям: клиническое значение полиморфизма гена TGFB1»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: д. м. н., профессор Шевченко О.П.

Сыркина Алла Владиславовна

«Неврологическое развитие детей – реципиентов донорской печени»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: д. м. н. Цирульникова О.М.

Тенчурина Эльмира Анвяровна

«Модель балльной оценки доноров сердца»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: д. м. н. Минина М.Г.

Шигаев Егор Федорович

«Отдаленные результаты трансплантации легких»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: академик РАН, д. м. н., профессор Готье С.В.

Кириллова Александра Дмитриевна

«Тканеспецифические матриксы из децеллюляризованных фрагментов печени и суставного хряща для тканевой инженерии»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: д. б. н. Немец Е.А.

Марченко Алексей Васильевич

«МикроРНК-424 при трансплантации сердца: анализ экспрессии и диагностическая эффективность»

3.1.14 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Научный руководитель: член-кор. РАН, д. м. н., профессор Шевченко А.О.

ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ Д 001.027.02

при ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»,

утвержден приказом Рособнадзора № 1925-1805 от 11.09.2009 г.

Полномочия совета подтверждены приказом Министерства образования и науки РФ от 11 апреля 2012 г. № 105/нк:

– медицинские науки.

В диссертационном совете Д 001.027.02 при ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» в 2021 году защиты диссертаций на соискание ученой степени по специальности **«трансплантология и искусственные органы»** не проводились.

ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ Д 850.010.02

при ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»,
утвержден приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 23 сентября 2015 г. № 1136/нк:
– медицинские науки.

В диссертационном совете Д 001.027.02 при ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы» по специальности **«трансплантология и искусственные органы»** защищена одна диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Назаров Парвиз Халимович

«Инфекционные осложнения после пересадки почки, полученной от родственника»

14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Работа выполнена в Национальном научном центре трансплантации органов и тканей человека Академии медицинских наук при Министерстве здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан. Научный руководитель: д. м. н. Новрузбеков М.С.

**VIII. МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИЙ
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»,
ЗАЩИЩЕННЫХ В 2021 г.
в диссертационном совете
ДСТИО 001.21 при ФГБУ
«Национальный медицинский
исследовательский центр
трансплантологии и искусственных
органов имени академика
В.И. Шумакова» Минздрава России**

**МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ СТРАТЕГИИ ЛИСТА ОЖИДАНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

Кострыкин М.Ю., Цирульникова О.М., Коробка В.Л.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Одной из главных задач трансплантологии является обеспечение выживаемости больных циррозом печени (ЦП) в листе ожидания исходя из клинической ситуации и времени ожидания трансплантации (Готье С.В., 2020; Im G. 2020).

Для решения этой задачи важен индивидуальный подход к ведению пациента в листе ожидания трансплантации печени (ЛОТП) (Коробка В.Л., 2019). Сочетание того или иного симптомокомплекса, наличие доминирующего осложнения требует взвешенного принятия решения в отношении сроков проведения трансплантации (Lerprke S., 2013).

Современный этап развития трансплантологии обуславливает растущую потребность в донорских органах во всем мире. В нашей стране эта проблема тоже актуальна (Чжао А.В., 2011). Определенным образом изменить данную ситуацию призвана специфическая этиопатогенетическая терапия, применяемая для лечения больных вирусным гепатитом, в первую очередь гепатитом С (Цирульникова О.М., 2018). В этом направлении уже достигнуты существенные положительные результаты. У части больных на фоне проведенной терапии удается достичь восстановления функции печени, что позволяет отсрочить сроки ее трансплантации или отложить операцию вообще, таким образом, уменьшив число пациентов в листе ожидания трансплантации печени (Гранов А.М., 2015). Еще одним способом обеспечения донорским органом является родственная трансплантация (Готье С.В., 2015; Руммо О.О., 2015). Данные меры в какой-то степени способны решить проблему донорского дефицита, однако о полном решении вопроса говорить не приходится.

За последние тридцать лет стратегия распределения донорских органов претерпела ряд изменений, пройдя несколько этапов своего становления и некоторым образом улучшив выживаемость пациентов, находящихся в ожидании трансплантации печени (ТП) (Цирульникова О.М., 2018). Частично этому способствовало внедрение математических моделей в клиническую практику, в частности индекса MELD, способного прогнозировать течение цирроза печени (Aiello F., 2017). Тем не менее постоянный дефицит органов и рост числа нуждающихся в трансплантации печени больных по-прежнему обуславливают высокий риск смерти тяжелобольных циррозом печени пациентов во время ожидания трансплантации печени, что существенно сокращает общую выживаемость в листе ожидания трансплантации печени (Zamora-Valdes D., 2015; Goyes D., 2021).

Таким образом, возрастающий дефицит органов и высокая смертность ожидающих трансплантацию пациентов диктуют необходимость изменения трансплантологической доктрины. В первую очередь это касается протокола ведения больных в листе ожидания (Минина М.Г., 2017; Зулкарнаев А.Б., 2020; Ritschl P., 2020). Ведение пациентов должно гарантировать не только возможность достижения наилучшего физического состояния до начала трансплантации печени (ТП), определяющего успех течения послеоперационного периода, но и предупреждать выбывание из листа ожидания трансплантации печени по причине смерти.

Представляется очевидной необходимость дальнейшего изучения имеющихся моделей и тактик стратификации потенциальных реципиентов, основанных в первую очередь на оценке тяжести течения цирроза печени и сопряженных с ним осложнений, повышающих риск неблагоприятного исхода в период ожидания спасительной операции.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения тяжелых заболеваний печени путем повышения выживаемости потенциальных реципиентов в период ожидания трансплантации и обоснования трансплантационного приоритета с учетом предикторов неблагоприятного исхода.

Задачи исследования

1. Изучить смертность больных циррозом печени в период ожидания трансплантации, исходя из сроков наблюдения в листе ожидания.
2. Изучить прогностическую способность индекса MELD-Na в оценке тяжести цирроза печени при различных сроках наблюдения больных в листе ожидания.
3. На основании клинических и лабораторных данных определить предикторы риска смерти пациентов в листе ожидания трансплантации печени.

4. Оценить риск развития неблагоприятного события (смерти) для каждого выявленного предиктора.
5. Разработать прогностические модели для оценки риска смерти больных, находящихся в листе ожидания, и определения критериев трансплантационного приоритета.
6. Оценить влияние стратегии отбора больных для трансплантации печени на показатель смертности в листе ожидания и непосредственные результаты операции.

Научная новизна

Впервые выявлены предикторы неблагоприятного прогноза в разные периоды наблюдения больных циррозом печени в листе ожидания трансплантации и доказано их клиническое значение.

Впервые произведено математическое моделирование неблагоприятного исхода в листе ожидания трансплантации печени с учетом выявленных предикторов смерти.

Новым является алгоритм стратификации ожидающих трансплантацию печени пациентов, базирующийся на оценке риска смерти, рассчитываемого с помощью оригинальных индексов.

Впервые показано влияние разработанных прогностических индексов на показатель выживаемости в листе ожидания и после операции.

Теоретическая и практическая значимость

Предложенная концепция выявления предикторов и предлагаемые оригинальные индексы определяют оптимальный отбор реципиентов для трансплантации печени.

Статистический анализ показал, что в условиях увеличения числа больных, находящихся в листе ожидания, при дефиците донорских органов при определении кандидатов на трансплантацию печени необходимо учитывать ряд клинических и лабораторных показателей. Такими показателями являются: сроки ожидания трансплантации, MELD-Na, возраст кандидата, степень энцефалопатии, содержание в крови лейкоцитов, наличие острой печеночной недостаточности, возникшей на фоне хронической, наличие тромбоза воротной вены.

При отборе кандидатов на трансплантацию печени следует учитывать, что риск смерти потенциального реципиента зависит от сроков пребывания больных в листе ожидания, поэтому его оценка должна основываться не только на индексе MELD-Na, но и индексах MNHE и AFMLT.

Результаты исследования могут быть полезны для повышения теоретической и практической подготовки специалистов, занимающихся отбором кандидатов на трансплантацию печени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Использование индексов MELD, MELD-Na и шкалы Child-Turcotte-Pugh, применяемых для оценки тяжести цирроза, недостаточно для принятия решения о трансплантации печени.
2. Для больных циррозом печени существуют предикторы, такие как MELD-Na, возраст, степень печеночной энцефалопатии, количество лейкоцитов, острая печеночная недостаточность, возникшая на фоне хронической, тромбоз воротной вены, которые отягчают течение заболевания и повышают риск смерти в различные сроки ожидания трансплантации.
3. Использование выявленных предикторов смерти в качестве объективных критериев отбора больных из листа ожидания на трансплантацию печени позволит более эффективно распределять донорские органы в условиях их дефицита.
4. Предлагаемые критерии отбора больных на трансплантацию печени не изменяют структуру послеоперационных осложнений, среди которых сосудистые причины являются основным фактором негативного исхода.

Методология и методы исследования

В исследовании проведен ретроспективный анализ данных 350 больных, находившихся в листе ожидания трансплантации печени регионального трансплантологического центра (Государственное бюджетное учреждение Ростовской области «Ростовская областная клиническая больница») в период с 2015-го по 2020 год. В ходе работы использованы инструментальные методы диагностики и лечения больных циррозом печени, статистические многомерные подходы к анализу полученных данных.

Степень достоверности

Достоверность результатов исследования обеспечена достаточным объемом клинического материала, данными современных лабораторных и инструментальных исследований, четко сформулированными задачами. В работе использованы современные статистические методы анализа и оценки исследуемых явлений.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются в Центре хирургии и координации донорства Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Ростовская областная клиническая больница», г. Ростов-на-Дону; в хирургическом отделении № 2 Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр

трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; в отделении хирургии № 1 Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации автором опубликована 21 научная работа, в том числе 11 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, в том числе 5 статей в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science. Получено 2 патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 179 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики материала и методов исследования, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 52 отечественных и 167 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 53 рисунками, включает 12 формул.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн исследования

Настоящее исследование представляет собой аналитический вид работы, основанной на ретроспективном анализе данных 350 больных ЦП, ожидавших трансплантацию печени в ЛОТП регионального трансплантологического центра – Центра хирургии и координации донорства ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», полученных в период с 2015-го по 2020 год (рис. 1).

В исследование вошли пациенты с ЦП вирусной этиологии, алкогольной болезнью печени и аутоиммунными заболеваниями. Из исследования были исключены больные с гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК), распространенным тромбозом воротной вены (ТБВ) – 3–4-й ст. по Yerdel, а также больные, которые в последующем перенесли трансплантацию, орган для которой был получен от родственного донора.

Анализ данных был проведен в несколько этапов:

- **1-й этап** – изучение демографических, клинических и лабораторных данных вошедших в исследование больных;

ЛИСТ ОЖИДАНИЯ	Умершие		Живые			
			Отобранные на ТП		Наблюдаемые в ЛОТП	
	1-й период 2015-2017	2-й период 2018-2020	1-й период 2015-2017	2-й период 2018-2020	1-й период 2015-2017	2-й период 2018-2020
до 3 мес.	7	19	13	14	27	270
от 3 до 12 мес.	12	20	5	16	10	234
более 12 мес.	7	20	3	15	0	199
350	85		66		199	

Рис. 1. Распределение вошедших в исследование больных по исходам и периодам наблюдения в листе ожидания трансплантации печени

- **2-й этап** – изучение соотношения благоприятных и неблагоприятных исходов у пациентов в ЛОТП;
- **3-й этап** – выявление факторов риска и предикторов смерти для больных ЦП, наблюдавшихся до трех месяцев, от трех до двенадцати месяцев и более двенадцати месяцев;
- **4-й этап** – изучение прогностической способности индекса MELD-Na при его использовании для оценки тяжести больных в разные периоды их пребывания в ЛОТП;
- **5-й этап** – математическое моделирование неблагоприятного исхода с использованием предикторов, выявленных на третьем этапе;
- **6-й этап** – создание новых моделей (методик), отличающихся от известных способов определения вероятности смерти у больных ЦП;
- **7-й этап** – оценка новых методик определения тяжести больных с точки зрения их влияния на показатель выживаемости в ЛОТП и после ТП.

Общая характеристика клинического материала

Среди вошедших в исследование пациентов 54,9% были лицами мужского пола. Средний возраст больных составил 52 года. Наиболее частой причиной ЦП был вирусный гепатит – 175 наблюдений (50%). Алкогольная болезнь повлекла за собой ЦП у 112 (32%) человек, у 63 (18%) пациентов причиной цирроза были аутоиммунные заболевания.

На момент включения больных в ЛОТП 72,6% отмечали постоянную слабо выраженную боль в правом подреберье, усиливающуюся после физической нагрузки и проявляющую себя ощущением «увеличения» пече-

ни. На периодически возникающие приступы тошноты с эпизодами рвоты жаловалось 34,3% больных. 86,6% пациентов отмечали желтушность кожных покровов и слизистых с различной степенью интенсивности, при этом 53,1% из них предъявляли жалобы на кожный зуд. Выраженная сеть подкожных сосудов на животе в виде «головы медузы» имела место у 10,9% больных.

Клинические данные показали, что у 25,4% пациентов отмечались расстройства сознания в виде изменения ритма сна, снижения внимания и концентрации, кроме того, обращали на себя внимание акцентуация личности, неврастения, изменение почерка и тремор. У 58,6% пациентов были выявлены нарушение обратного счета, апатия и смазанная речь. Все это свидетельствовало о наличии у пациентов тяжелой ПЭ 3–4-й степени, которая была выявлена у 60,9% больных.

Все без исключения пациенты имели асцит различной степени выраженности. Вторая и третья степень асцита была выявлена у 68% больных, при этом средний показатель индекса массы тела (ИМТ) больных составил 26,3 кг/м².

Для 99% пациентов, вошедших в исследование, одним из осложнений цирроза стало варикозное расширение вен пищевода (ВРВП), при этом 47,4% больных имели третью и четвертую степень. Разрывы варикозных узлов стали причиной варикозных кровотечений (ВК) из верхних отделов ЖКТ у 64,6% пациентов. Данные анамнеза указывали на то, что в 38,3% случаев кровотечения были рецидивными с частотой эпизодов от 2 до 14.

Усугублял течение ЦП ТВВ. Это осложнение способствовало нарушению портального кровотока, прогрессированию ПЭ и отечно-асцитического синдрома, увеличивало риск ВК. Так, первую стадию ТВВ (классификация Yerdel) с обструкцией вены менее половины ее просвета при отсутствии распространения тромба в верхнюю брыжеечную вену имели 4,6% больных. Вторая стадия ТВВ с обструкцией воротной вены более чем половины ее просвета и минимальным переходом на верхнюю брыжеечную вену была выявлена у 6,3% пациентов.

Следует отметить, что на момент включения в ЛОТП 20% из них имели острую печеночную недостаточность, развившуюся на фоне хронической (ОХПН).

Следствием длительно существующего хронического заболевания печени стало изменение основных лабораторных показателей пациентов. Так, средний показатель количества лейкоцитов крови составлял $3,2 \times 10^9/\text{л}$, а тромбоцитов – $73,3 \times 10^9/\text{л}$. Биохимический анализ крови показал, что средний уровень сывороточного альбумина составлял 32,5 г/л; билирубина – 98,6 мкмоль/л; креатинина – 124,8 мкмоль/л; щелочной фосфатазы – 365,4 Ед/л; натрия – 138 ммоль/л. Средний показатель МНО равнялся 1,8.

На момент включения больных в ЛОТП среднее значение индекса MELD-Na было равно 21 баллу, при этом у 42,3% больных индекс превы-

шал средний показатель. Исходя из критериев Child (Child-Turcotte-Pugh) средний индекс по классификации составлял 13 баллов, в 57,1% случаев значение индекса превышало средний показатель. При расчете индекса коморбидности Charlson его среднее значение составило 9 баллов, 43,4% пациентов имели балл выше среднего.

Методы обследования

При включении больных в ЛОТП и в процессе последующего наблюдения использовали клинические и лабораторные методы исследования. Лабораторные тесты включали оценку функционального состояния печени и морбидного фона пациента. У больных исследовали общие анализы крови и мочи, проводили биохимический анализ крови. Обязательно определяли групповую принадлежность и резус-фактор, исследовали показатели коагулограммы и изучали данные тромбоэластограммы. Проводили полное вирусологическое обследование.

Для постановки диагноза использовали клинико-инструментальную диагностику портального кровотока и структуры печени (УЗИ с доплерографией, компьютерная томография, в том числе с внутривенным контрастированием, непрямая эластометрия печени). По показаниям обследование дополняли сцинтиграфией (статической и динамической), биопсией печени.

Для оценки тяжести терминальных стадий заболеваний печени использовали индексы MELD и MELD-Na, классификацию Child-Turcotte-Pugh (СТР). Прогноз жизни больных, исходя из сопутствующей основному заболеванию патологии, оценивали по индексу коморбидности Charlson.

Методы математического моделирования

Оценку риска смерти для больных ЦП осуществляли по разработанным автором индексам MNHE (заявка на изобретение № 2021111952) и AFMLT (патент РФ № 2737582).

При включении больного в ЛОТП дополнительно к индексу MELD-Na определяли степень печеночной энцефалопатии (ПЭ). Баллы, начисленные за фактические значения MELD-Na и степени ПЭ, подставляли в формулу:

$$\text{индекс MNHE} = \text{MN}_i + \text{HE}_i, \quad (1)$$

где MN_i – балл, соответствующий значению индекса MELD-Na; HE_i – балл, соответствующий значению степени ПЭ.

Так, если значение индекса MELD-Na было менее 17, начисляли 1 балл, при индексе MELD-Na в диапазоне от 18 до 20 начисляли 2 балла, если MELD-Na находился в диапазоне от 21 до 24 – 3 балла, если свыше 25 – 4 балла. При первой степени ПЭ начисляли 1 балл, при второй степени – 2 балла, при третьей степени – 3 балла, при четвертой степени – 4 балла.

Если ПЭ отсутствовала, то никакие баллы не начисляли. Исходя из формулы, вычисляли значение индекса MNHE в баллах и определяли риск смерти больного.

При значениях индекса MNHE, находящихся в диапазоне до 3 баллов, риск смерти считали равным 6%. Если значение индекса находится в диапазоне от 3 до 4 баллов – риск смерти равен 26%; если значение индекса находится в диапазоне от 5 до 6 баллов – риск смерти составляет 57%; если значение индекса MNHE превышает 6 баллов – риск смерти составляет 82%.

При включении больного в ЛОТП дополнительно к индексу MELD-Na учитывали возраст пациента, наличие острой печеночной недостаточности, возникшей на фоне хронической (ОХПН), количество лейкоцитов и наличие ТВВ. Баллы, начисленные за фактические значения учтенных факторов, подставляли в формулу:

$$\text{индекс AFMLT} = A_i + F_i + M_i + L_i + T_i, \quad (2)$$

где A_i – балл, соответствующий возрасту пациента; F_i – балл за наличие у больного острой печеночной недостаточности, развившейся на фоне хронической; M_i – балл, соответствующий значению индекса MELD-Na; L_i – балл, соответствующий количеству лейкоцитов; T_i – балл за наличие у больного ТВВ.

Если возраст пациента не превышал 43 лет, начисляли 1 балл, при возрасте больного от 44 лет до 51 года – 2 балла, при возрасте больного от 52 до 57 лет – 3 балла, если больной был старше 58 лет – 4 балла. При наличии у больного хронической печеночной недостаточности (ХПН) начисляли 1 балл, при ОХПН – 2 балла. Если значения индекса MELD-Na не превышали 17, начисляли 1 балл, при индексе MELD-Na в диапазоне от 18 до 20 начисляли 2 балла, при индексе MELD-Na в диапазоне от 21 до 24 – 3 балла, при индексе MELD-Na свыше 25 – 4 балла. При количестве лейкоцитов более $3,8 \times 10^9/\text{л}$ начисляли 1 балл, при количестве лейкоцитов от $3,2$ до $3,7 \times 10^9/\text{л}$ – 2 балла, при количестве лейкоцитов от $2,8$ до $3,1 \times 10^9/\text{л}$ – 3 балла, при количестве лейкоцитов менее $2,7 \times 10^9/\text{л}$ – 4 балла. При наличии ТВВ начисляли 1 балл, при его отсутствии баллы не начисляли. Исходя из формулы, вычисляли значение индекса MNHE в баллах и определяли риск смерти больного.

При значениях индекса AFMLT, находящихся в диапазоне до 6 баллов, риск смерти считали равным 17%. Если значение индекса находится в диапазоне от 6 до 7 баллов – риск смерти равен 29%; если значение индекса находится в диапазоне от 8 до 9 баллов – риск смерти составляет 44%; если значение индекса находится в диапазоне от 10 до 11 баллов – риск смерти составляет 70%; если значение индекса находится в диапазоне от 12 до 13 баллов – риск смерти составляет 88%; если значение индекса AFMLT превышает 13 баллов – риск смерти составляет 97%.

Методы лечения

Всем вошедшим в исследование пациентам проводили патогенетическую, этиотропную и симптоматическую терапию. Лечение больных осуществляли согласно актуальным клиническим рекомендациям Российского гастроэнтерологического общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени, а также исходя из рекомендаций Европейской ассоциации по изучению печени.

В случаях возникновения угрожающих жизни пациентов состояний – кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода (ВРВП) – осуществляли хирургические эндоскопические манипуляции (лигирование ВРВП), эндоваскулярные вмешательства (трансюгулярное портосистемное шунтирование). Кроме того, выполняли открытые операции – азигопортальное разобщение (Коробка В.Л., 2011). В связи с резистентным к терапии асцитом проводили процедуры лечебного лапароцентеза.

ТП во всех случаях производили в соответствии с этическими и правовыми нормами, в рамках законодательства Российской Федерации.

В ряде случаев при возникновении после ТП артериальных сосудистых осложнений (в частности стеноз артериального анастомоза и тромбоз печеночной артерии) применяли методику хирургического лечения, разработанную автором (патент РФ № 2736905).

Статистический анализ

Статистический анализ произвели в программе IBM SPSS Statistics 23 (IBM Inc., США), стандартными аналитическими инструментами.

Проверку гипотезы о нормальности распределения данных выполнили критерием Колмогорова–Смирнова. Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05. При превышении критерием 5% порога статистической значимости делали заключение о том, что распределение соответствует нормальному. Для характеристики (описания) количественных данных использовали показатели, описывающие центральное значение изучаемого признака, и показатели, характеризующие степень рассеивания значений вокруг центра распределения. При нормальном распределении количественные данные представляли средним арифметическим (M) и стандартным отклонением – M (SD). При распределении, отличающимся от нормального, данные представляли медианой и процентилями – Me (P_{25} ; P_{75}). Категориальные данные представляли отношением, долей изучаемого признака в выборке, процентным соотношением и 95% доверительным интервалом. Для расчета доверительных интервалов использовали метод Вальда.

При распределении данных, подчиняющихся закону нормального распределения, тестирование нулевой гипотезы об отсутствии различий между средними значениями проводили с помощью t -критерия Стьюдента с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA-test). В случае

отсутствия нормального распределения данных тестирование нулевой гипотезы об отсутствии различий между средними значениями проводили с помощью одновыборочного Т-критерия Уилкоксона для парных связанных выборок, U-критерия Манна–Уитни для двух независимых выборок. Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05.

При сравнении частоты встречаемости признака в одной выборке с заданным значением использовали Z-критерий. Если предполагалось сравнение двух независимых групп номинальных данных, то применяли критерий (χ^2) Пирсона, точный критерий Фишера. Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05.

Для поиска предиктивных переменных и расчета рисков прогнозируемых исходов использовали регрессионный анализ (простая линейная регрессия, бинарная логистическая регрессия, полиномиальная логистическая регрессия). Данные виды анализа позволяли получать математические модели и коэффициенты регрессии, рассчитывать коэффициент риска проверяемого события.

Для оценки качества регрессионных моделей (предсказательной способности) строили ROC-кривые (Receiver Operating Characteristic) и вычисляли площадь под кривой AUC (Area Under Curve). В качестве нулевой гипотезы принималось утверждение, что AUC ROC не отличается от величины 0,5.

Сравнительную оценку накопленных рисков и выживаемости в группах проводили регрессией Кокса с расчетом риска наступления проверяемого события (HR) и определением для показателя 95% доверительного интервала (ДИ/CI). Критический уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05. Для оценки связи между проверяемым исходом и фактором риска использовали показатель – отношение шансов (ОШ), позволяющий сравнивать группы исследуемых по частоте выявления исхода.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из 350 пациентов – кандидатов на ТП за пять лет из ЛОТП по причине смерти из-за декомпенсации ЦП было 85 человек. Показатель смертности в ЛОТП составил 24,3%. Анализ смертности больных в ЛОТП показал ее неравномерное распределение в разные сроки наблюдения с тремя количественными подъемами ($\chi^2_{(2)} = 74,4$; $p < 0,001$) (рис. 2).

Наибольшее число больных умерло в течение первого года наблюдения – 58 человек (68,2% от общего числа умерших больных), из них 44,8% умирало до трех месяцев – первый пик смертности. Показатель смертности за первый год ожидания ТП составил 44,3%.

В течение второго года пребывания в ЛОТП умерло 14 человек (16,5% от общего числа умерших больных), из них 71,4% умирало с двенадцатого по восемнадцатый месяц – второй пик смертности. Показатель смертности за второй год ожидания трансплантации составил 11,0%.

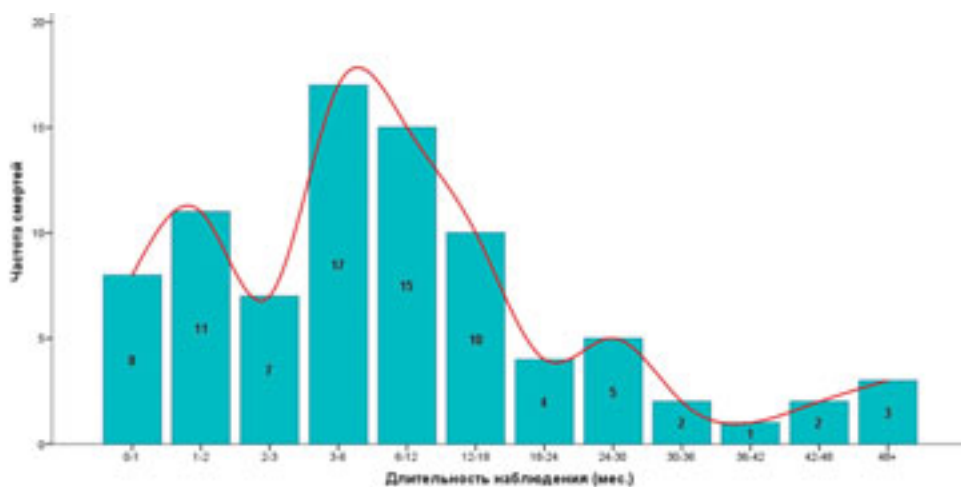


Рис. 2. Распределение летальных исходов по срокам нахождения в листе ожидания трансплантации печени

После двухлетнего пребывания в ЛОТП число умерших пациентов составило 13 человек (15,3% от общего числа умерших больных). Большинство из этих пациентов умерло в период с двадцать четвертого по тридцать шестой месяц, обусловив третий подъем показателя смертности. Показатель смертности в ЛОТП для больных, наблюдавшихся свыше двух лет, составил 14,1%.

Было установлено, что к третьему месяцу нахождения больных в ЛОТП риск смерти возрастает в 1,75 раза (175%), вероятность остаться в живых не превышает 17% (рис. 3).

К двенадцати месяцам нахождения больных в ЛОТП риск смерти возрастает в 1,07 раза (107%), тогда как вероятность остаться в живых не превышает 34% (рис. 4).

Спустя три с половиной года нахождения больных в ЛОТП вероятность риска смерти составляет 17%, а вероятность остаться в живых – не менее 84% (рис. 5).

Такие данные позволили предположить, что усугублять течение основного заболевания может ряд факторов, которые также оказывают влияние на выживаемость больных в разные периоды их нахождения в ЛОТП.

Было установлено, что до трех месяцев наблюдения в ЛОТП факторами, повышающими риск смерти, являются показатели количества лейкоцитов ($p < 0,001$), тромбоцитов ($p = 0,021$), сывороточный альбумин ($p < 0,001$), MELD-Na ($p = 0,001$) и степень ПЭ ($p = 0,020$). Значимые предикторы летального исхода – количество лейкоцитов ($p = 0,001$) и MELD-Na ($p = 0,005$).

AUC ROC MELD-Na – 0,754 (95% CI 0,619–0,889; $p = 0,001$) – независимый (чувствительный) предиктор летального исхода, AUC ROC лейкоцитов – 0,155 (95% CI 0,050–0,259; $p < 0,001$) – зависимый (специфичный) предиктор (рис. 6).

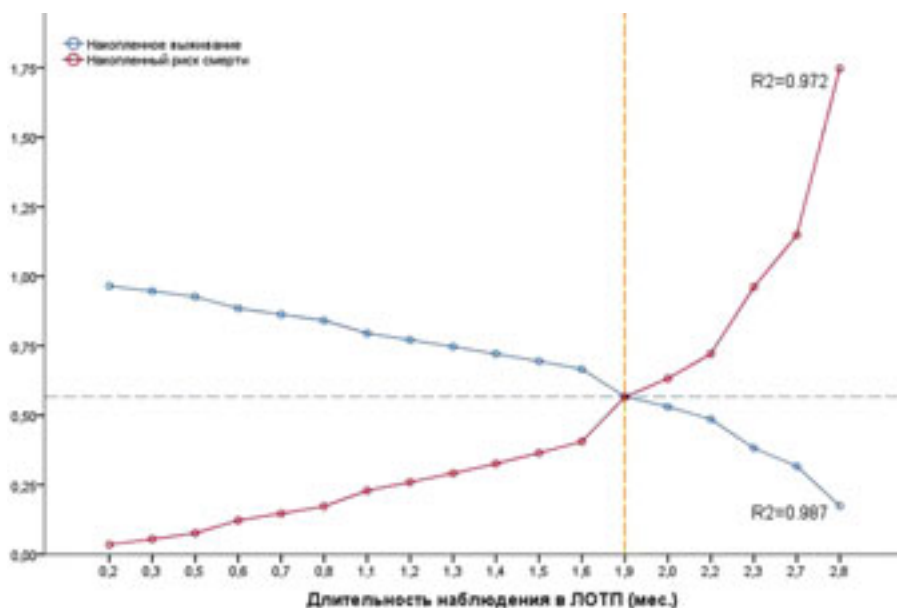


Рис. 3. График аппроксимации функции выживания и накопленного риска смерти при трехмесячном пребывании в листе ожидания трансплантации печени

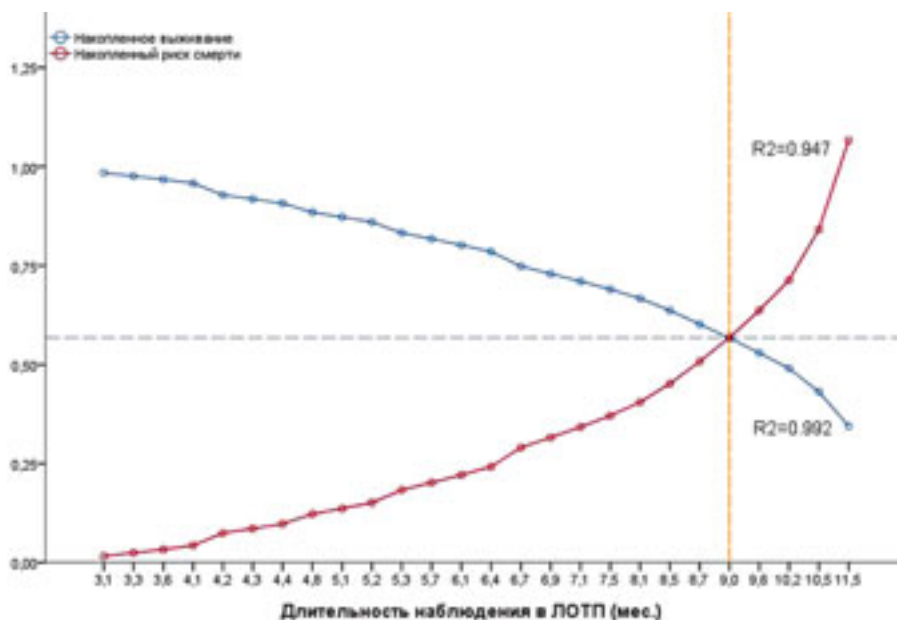


Рис. 4. График аппроксимации функции выживания и накопленного риска смерти в период пребывания в листе ожидания трансплантации печени от 3 до 12 месяцев

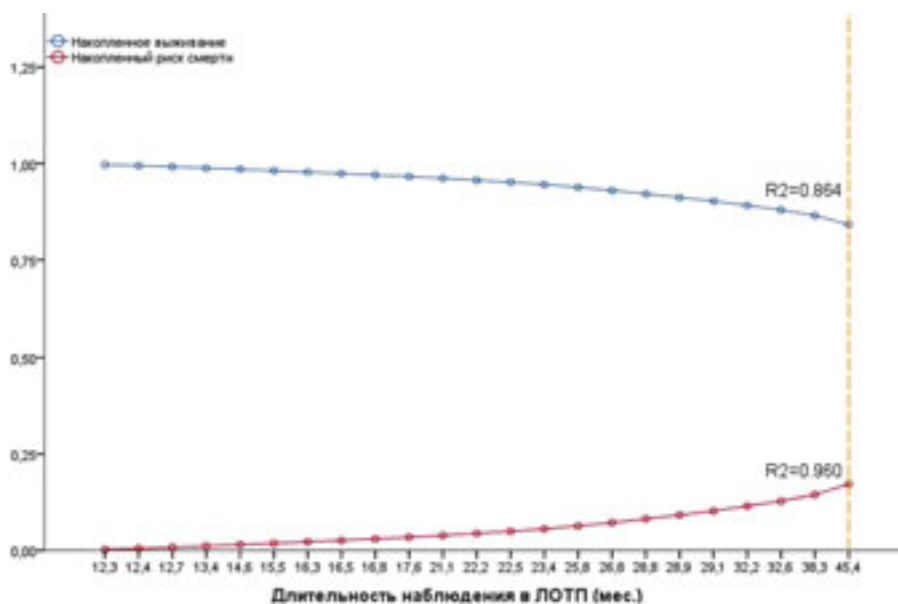


Рис. 5. График аппроксимации функции выживания и накопленного риска смерти при пребывании пациентов в листе ожидания трансплантации печени свыше 12 месяцев

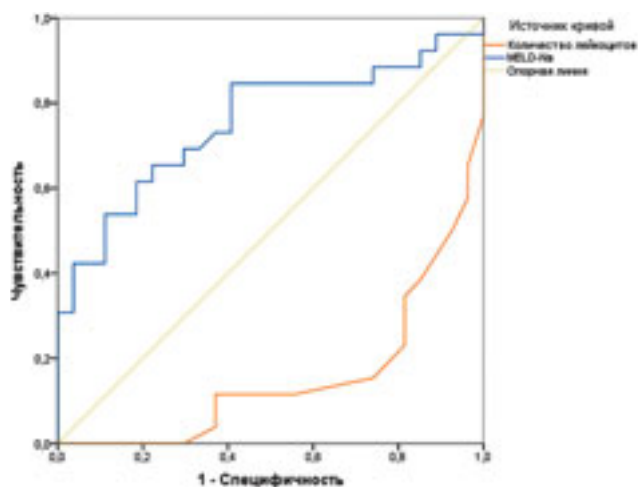


Рис. 6. ROC-кривые предикторов первого временного периода

Более высокий риск смерти при нахождении в ЛОТП до трех месяцев имеют больные с показателями MELD-Na выше 28 баллов, чем пациенты с MELD-Na менее 28 баллов ($p = 0,008$), а также больные с количеством лейкоцитов менее $2,5 \times 10^9/\text{л}$, чем пациенты с содержанием в крови лейко-

цитов более $2,5 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,001$). Отношение шансов Мантель-Хенцеля для развития смерти при условии, если показатель MELD-Na при включении в ЛОТП более 28 баллов, оказалось равным 4,85 [95% ДИ 1,57–14,92; $p = 0,002$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если количество лейкоцитов при включении в ЛОТП менее $2,5 \times 10^9/\text{л}$, оказалось равным 7,61 [95% ДИ 1,15–50,42; $p = 0,001$].

Факторами, повышающими риск смерти с третьего по двенадцатый месяц наблюдения в ЛОТП, являются показатели возраста ($p = 0,006$), MELD-Na ($p < 0,001$), лейкоцитов ($p < 0,001$) и тромбоцитов ($p < 0,001$), альбумина ($p < 0,001$), щелочной фосфатазы (ЩФ) ($p = 0,039$). Кроме того, статистически значимое влияние на риск смерти оказывают ОХПН ($p = 0,006$), асцит ($p = 0,003$), ПЭ ($p < 0,001$), кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода (ВРВП) ($p = 0,015$) и ТВВ ($p = 0,008$).

Значимыми предикторами летального исхода в этот период времени являются ПЭ ($p = 0,002$), количество тромбоцитов ($p = 0,018$) и лейкоцитов ($p = 0,013$), MELD-Na ($p = 0,009$).

AUC ROC MELD-Na – 0,772 (95% CI 0,629–0,814; $p < 0,001$) – независимый (чувствительный) предиктор летального исхода. AUC ROC ПЭ – 0,702 (95% CI 0,612–0,792; $p < 0,001$) – независимый (чувствительный) предиктор летального исхода. AUC ROC лейкоцитов – 0,247 (95% CI 0,162–0,332; $p < 0,001$) – зависимый (специфичный) предиктор. AUC ROC тромбоцитов – 0,280 (95% CI 0,192–0,369; $p < 0,001$) – зависимый (специфичный) предиктор (рис. 7).

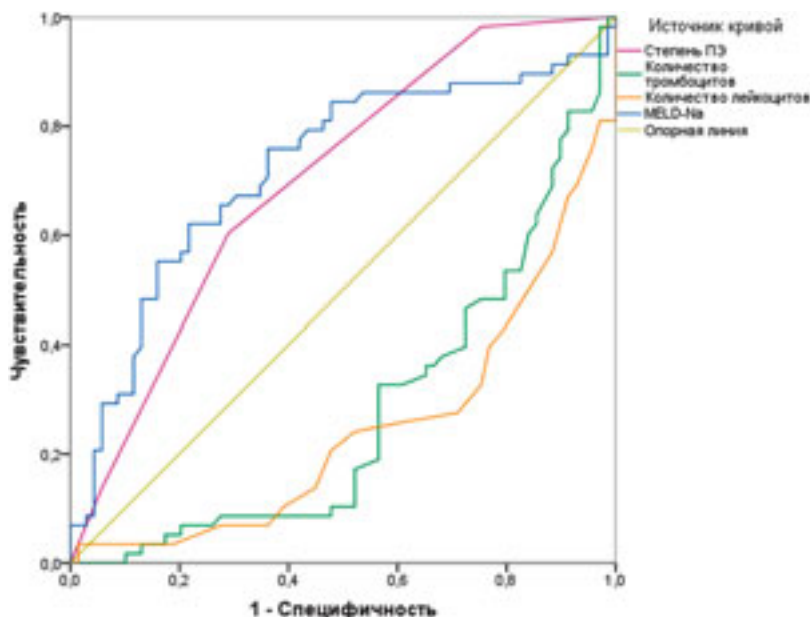


Рис. 7. ROC-кривые предикторов второго временного периода

Более высокий риск смерти в период нахождения больных в ЛОТП от трех до двенадцати месяцев имеют больные с показателями MELD-Na выше 27 баллов, чем пациенты с MELD-Na менее 27 баллов ($p = 0,031$), а также больные с ПЭ 3–4-й степени, чем пациенты с ПЭ 1–2-й степени ($p = 0,011$). Кроме этого, риск развития смерти выше у больных с лейкоцитами в крови менее $2,7 \times 10^9/\text{л}$ в сравнении с пациентами, у которых количество лейкоцитов более $2,7 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$) и у больных с тромбоцитами в крови менее $46 \times 10^9/\text{л}$, в сравнении с пациентами, у которых количество тромбоцитов более $46 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,012$).

Отношение шансов Мантель-Хенцеля для развития смерти при условии, если MELD-Na более 27 баллов, оказалось равным 5,27 [95% ДИ 2,31–12,03; $p < 0,001$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если ПЭ имеет 3-ю и 4-ю степень, составило 3,73 [95% ДИ 1,78–7,81; $p < 0,001$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если количество лейкоцитов менее $2,7 \times 10^9/\text{л}$, оказалось равным 1,82 [95% ДИ 1,10–3,01; $p = 0,010$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если количество тромбоцитов менее $46 \times 10^9/\text{л}$, составило 2,07 [95% ДИ 1,04–4,13; $p = 0,013$].

Факторами, повышающими риск смерти больных, находящихся в ЛОТП свыше двенадцати месяцев, являются показатели возраста ($p = 0,015$), MELD-Na ($p = 0,004$), тромбоцитов ($p = 0,004$), лейкоцитов ($p < 0,001$) и ЩФ ($p = 0,034$). Наряду с этим статистически значимое влияние на риск смерти оказывают ОХПН ($p < 0,001$), кровотечения из ВРВП ($p = 0,004$) и ТВВ ($p = 0,007$). Значимыми предикторами летального исхода в этот период времени являются возраст ($p = 0,012$), ОХПН ($p < 0,001$), MELD-Na ($p = 0,001$), количество лейкоцитов ($p = 0,001$) и ТВВ ($p = 0,021$).

AUC ROC MELD-Na – 0,723 (95% CI 0,642–0,781; $p < 0,001$) – независимый (чувствительный) предиктор летального исхода. AUC ROC ОХПН – 0,711 (95% CI 0,642–0,781; $p < 0,001$) – независимый (чувствительный) предиктор летального исхода. AUC ROC возраста – 0,616 (95% CI 0,510–0,657; $p = 0,020$) – независимый (чувствительный) предиктор летального исхода. AUC ROC ТВВ – 0,588 (95% CI 0,515–0,662; $p = 0,013$). AUC ROC лейкоцитов составила 0,233 (95% CI 0,173–0,293; $p < 0,001$) – зависимый (специфичный) предиктор (рис. 8).

Спустя год ожидания ТП более высокий риск смерти имеют пациенты старше 55 лет в сравнении с более молодыми ($p = 0,012$). Выше риск смерти и у больных с показателем MELD-Na более 20 баллов в сравнении с пациентами, у которых MELD-Na менее 20 баллов ($p = 0,018$), а также у больных с количеством лейкоцитов менее $2,8 \times 10^9/\text{л}$, чем у больных с количеством лейкоцитов более $2,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,029$). Значимо больший риск смерти имеют пациенты с ОХПН и ТВВ в сравнении с теми, у кого эти осложнения отсутствуют ($p = 0,019$ и $p < 0,001$ соответственно).

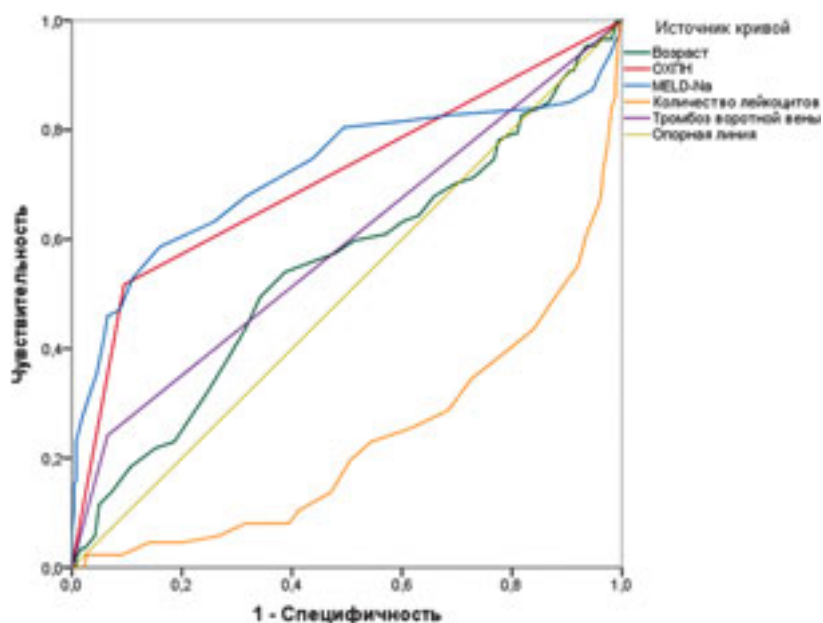


Рис. 8. ROC-кривые предикторов третьего временного периода

Отношение шансов Мантель-Хенцеля для развития смерти при условии, если пациент старше 55 лет, оказалось равным 1,70 [95% ДИ 0,76–3,81; $p < 0,019$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если MELD-Na свыше 20 баллов, составило 1,47 [95% ДИ 0,66–3,31; $p < 0,043$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если у пациента ОХПН – 10,54 [95% ДИ 4,01–27,66; $p < 0,001$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если у пациента есть ТВВ – 4,02 [95% ДИ 1,38–11,69; $p = 0,011$]. Отношение шансов для развития смерти при условии, если количество лейкоцитов менее $2,8 \times 10^9/\text{л}$ – 4,20 [95% ДИ 1,83–9,64; $p = 0,001$].

Независимо от длительности нахождения больных в ЛОТП при достижении индексом MELD-Na 25 баллов риск смерти возрастает ($\text{HR} = 4,71$; 95% CI 3,03–7,31; $p < 0,001$) (рис. 9). При этом, несмотря на превышение рисков в группе пациентов, находящихся в ЛОТП более трех месяцев, различия между сравниваемыми временными периодами не выявлено ($p = 0,585$) (рис. 10).

В ходе сравнения риска смерти при трехмесячном пребывании в ЛОТП он оказался достоверно выше в группе больных с показателем MELD-Na более 25 баллов ($p = 0,044$). У пациентов, наблюдаемых в ЛОТП от трех до двенадцати месяцев и более двенадцати месяцев, риск смерти значимо не отличался ($p = 0,232$ и $p = 0,088$ соответственно). Кроме того, было установлено, что в течение первого года среднее значение индекса MELD-Na непостоянно, имеет тенденцию к снижению, и спустя двенадцать месяцев нахождения пациентов в ЛОТП, индекс не может отражать действительную картину тяжести ЦП (рис. 11).

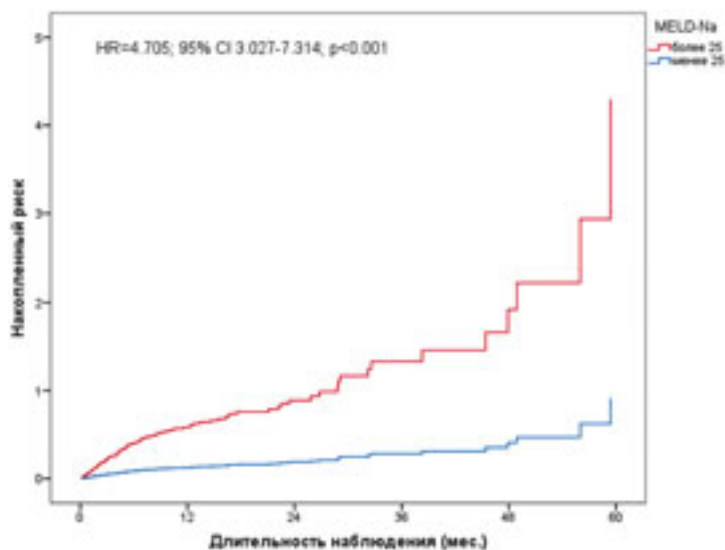


Рис. 9. Модель пропорциональных рисков Кокса. Функция накопленного риска. Оценка влияния различных градаций индекса MELD-Na на риск смерти больных в листе ожидания трансплантации печени

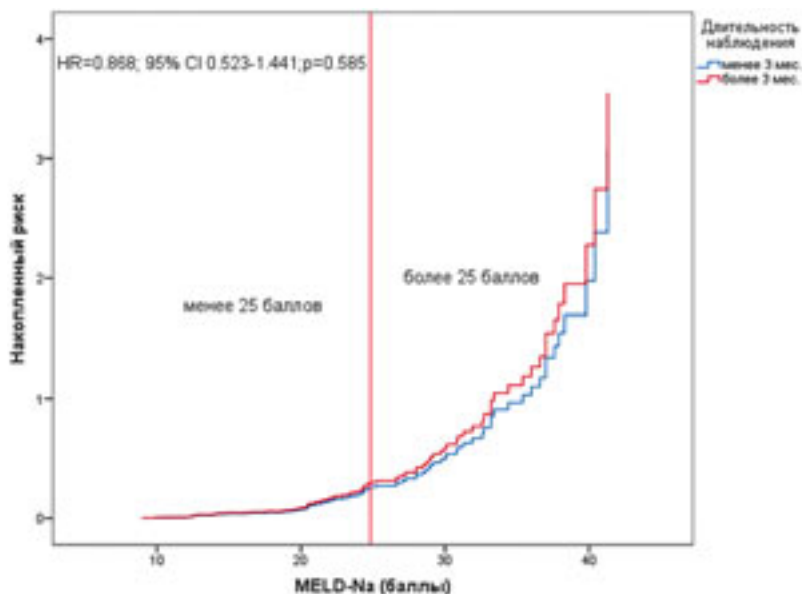


Рис. 10. Модель пропорциональных рисков Кокса. Функция накопленного риска. Оценка риска смерти в листе ожидания трансплантации печени в различные сроки наблюдения при достижении MELD-Na 25 баллов

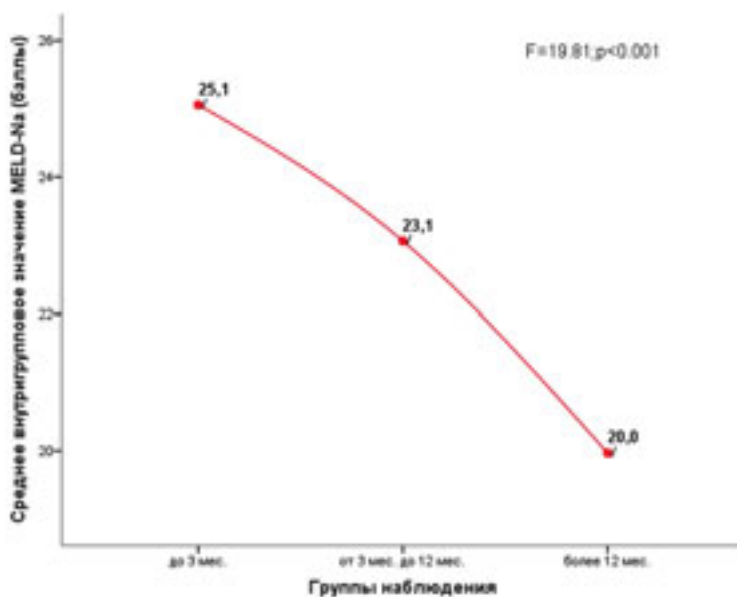


Рис. 11. Однофакторный дисперсионный анализ. Сравнительная оценка средних внутригрупповых значений индекса MELD-Na при разных сроках наблюдения в листе ожидания трансплантации печени

Проведенное нами математическое моделирование (с включением в него выявленных предикторов) позволило получить две модели оценки тяжести ЦП и риска смерти больных в период их пребывания в ЛОТП: от трех до двенадцати месяцев (модель MNHE) и более двенадцати месяцев (модель AFMLT).

Используя значения коэффициентов регрессии модели MNHE и баллов предикторов, коэффициент риска смерти можно рассчитать по формуле:

$$z = 0,496 \times \text{MELD-Na}_i + 0,981 \times \text{ПЭ}_i - 3,569, \quad (3)$$

где MELD-Na_i – балл MELD-Na; ПЭ_i – балл печеночной энцефалопатии.

Вероятность наступления смерти больного в сроки пребывания в ЛОТП от трех до двенадцати месяцев можно вычислить по шкале индекса MNHE (рис. 12).

Используя значения коэффициентов регрессии модели AFMLT и баллов предикторов, коэффициент риска смерти можно рассчитать по формуле:

$$z = 0,039 \times A_i - 1,703 \times F_i + 0,089 \times M_i - 0,801 \times L_i - 1,010 \times T_i - 0,537, \quad (4)$$

где A_i – балл возраста; F_i – балл ОХПН; M_i – балл индекса MELD-Na; L_i – балл количества лейкоцитов; T_i – балл ТВВ.

Вероятность наступления смерти больного, находящегося в ЛОТП более двенадцати месяцев, можно вычислить по шкале индекса AFMLT (рис. 13).

Риск смерти			
6%	26%	57%	82%
			
<3	3-4	5-6	>6
Балл MNHE			

Рис. 12. Шкала оценки риска смерти больных по индексу MNHE

Риск смерти					
17%	29%	44%	70%	88%	97%
					
<6	6-7	8-9	10-11	12-13	>13
Балл AFMLT					

Рис. 13. Шкала оценки риска смерти больных по индексу AFMLT

При сравнении прогностической способности полученных индексов было установлено, что и индекс MNHE, и индекс AFMLT отличаются от общепринятого индекса MELD-Na более высокой способностью оценки риска смерти при нахождении больных в ЛОТП более трех месяцев. Действительная площадь под ROC-кривой для индекса MELD-Na в период от трех до двенадцати месяцев составила 0,727 (95% CI 0,621–0,833; $p < 0,001$), для индекса MNHE – 0,787 (95% CI 0,688–0,886; $p < 0,001$).

Действительная площадь под ROC-кривой для индекса MELD-Na свыше двенадцати месяцев составила 0,723 (95% CI 0,648–0,798; $p < 0,001$), для индекса MNHE – 0,801 (95% CI 0,748–0,853; $p < 0,001$).

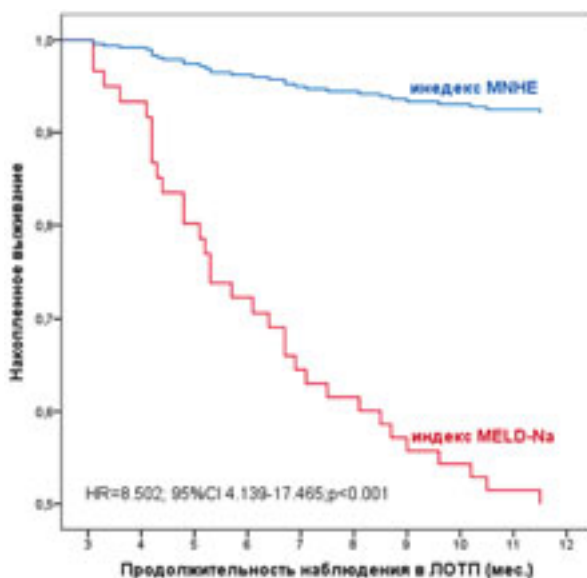
Регрессионный анализ показал, что с увеличением значений индекса MNHE и индекса AFMLT наблюдается увеличение риска смерти ($\chi^2_{(3)} = 85,69$; $p < 0,001$ и $\chi^2_{(5)} = 91,85$; $p < 0,001$, соответственно).

Полученные аналитические данные собственного исследования показали, что точность индекса MELD-Na при оценке тяжести ЦП ограничена довольно коротким временным интервалом (не более трех месяцев), и полагаться на его значения спустя этот срок нецелесообразно.

Установлено, что если отбор больных на ТП, находящихся в ЛОТП более трех месяцев, осуществлять только по индексу MELD-Na, вероятность неверной оценки тяжести кандидатов возрастает, а это влечет за собой снижение выживаемости остающихся в ЛОТП больных (рис. 14).

Стратификация потенциальных реципиентов через три месяца с момента внесения в ЛОТП по индексам MNHE и AFMLT позволяет ко второму году сохранить жизнь большинства из числа остающихся в ЛОТП пациентов.

а



б

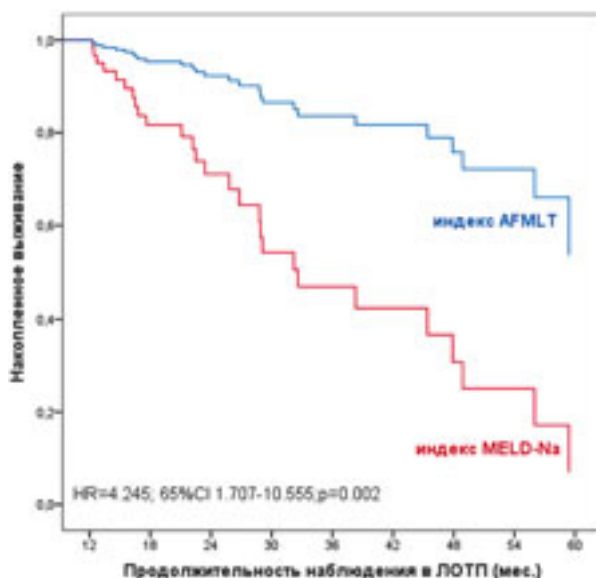


Рис. 14. Регрессия Кокса. Функция накопленного выживания. Сравнительная оценка выживаемости больных в листе ожидания трансплантации печени: а – при отборе на трансплантацию печени по индексу MNHE; б – при отборе на трансплантацию печени по индексу AFMLT

Результаты наших математических расчетов показали, что выживаемость при отборе на ТП по оригинальным индексам составит 85%, тогда как при отборе по индексу MELD-Na она не превысит 30% (рис. 15).

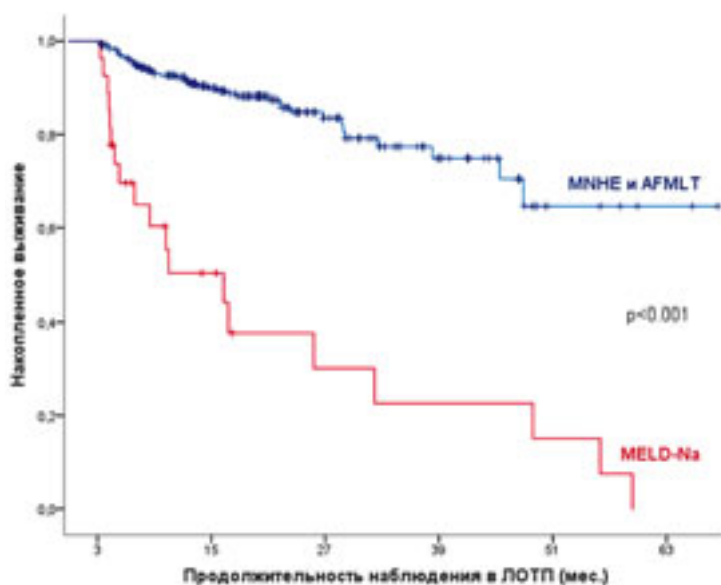


Рис. 15. Каплан–Мейер. Функция накопленного выживания. Сравнительная оценка выживаемости больных, остающихся в листе ожидания трансплантации печени после отбора кандидатов на трансплантацию печени по индексу MELD-Na и оригинальным методам

В ходе проверки влияния новых моделей на частоту развития ранних осложнений после ТП различие между теми пациентами, кто отбирался на операцию с учетом стандартных критериев, и теми реципиентами, кто был отобран по критериям оригинальных индексов, отсутствовало ($p = 1,000$).

Значимое влияние на возникновение послеоперационных осложнений оказывал пол донора ($F = 9,53$; $p = 0,003$). В 35% случаев осложнения возникали, если донор был женского пола ($r_p = -0,346$; $p = 0,001$), при этом отношение шансов Мантель–Хенцеля для возникновения в послеоперационном периоде осложнений, при условии, что трансплантат печени получен от донора женского пола, оказалось равным 1,23 [95% ДИ 1,09–1,63; $p = 0,004$], а риск развития осложнений составил 2,34 (рис. 16).

Возникновение осложнений после операции зависело от диаметра печеночной артерии (ПА) трансплантата ($F = 71,27$; $p < 0,001$) и выраженности стеатоза трансплантата ($F = 124,01$; $p < 0,001$). В 72% случаев осложнения возникали у реципиентов при диаметре ПА менее 5 мм ($r_p = -0,557$; $p < 0,001$) и в 69% случаев – при стеатозе более 25% ($r_p = 0,764$; $p < 0,001$).

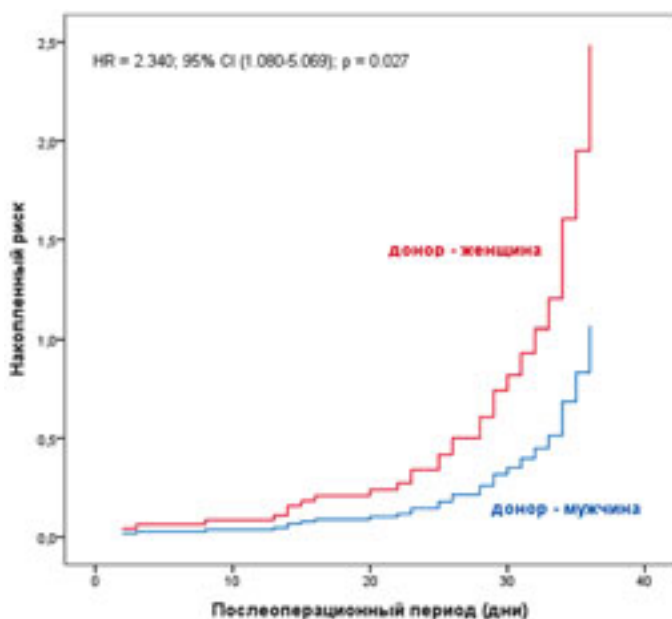


Рис. 16. Модель пропорциональных рисков Кокса. Функция накопленного риска. Сравнительная оценка влияния пола донора на развитие послеоперационных осложнений

Отношение шансов возникновения в послеоперационном периоде осложнений, при условии что диаметр ПА менее 5 мм, оказалось равным 4,50 [95% ДИ 1,16–17,44; $p = 0,030$], риск развития осложнений – 3,94. Отношение шансов возникновения послеоперационных осложнений, при условии что стеатоз трансплантата более 25%, составило 38,25 [95% ДИ 9,25–158,22; $p < 0,001$], риск развития осложнений – 10,07 (рис. 17).

При сравнении ряда интраоперационных данных пациентов, у которых имелись послеоперационные осложнения и у которых они отсутствовали, мы обнаружили, что значимая разница имела место по таким показателям, как продолжительность операции, время ишемии органа, интраоперационная кровопотеря. Таким образом, было сделано предположение об их факторном влиянии на развитие послеоперационных осложнений.

Значимое влияние на возникновение послеоперационных осложнений оказывали продолжительность операции ($F = 59,94$; $p < 0,001$) и объем интраоперационной кровопотери ($F = 102,92$; $p < 0,001$). В 66% случаев осложнения возникали у реципиентов при продолжительности операции более 7,5 часа ($r_p = 0,420$; $p < 0,001$) и у 60% пациентов при кровопотере более 1900 мл ($r_p = 0,771$ $p < 0,001$).

Отношение шансов возникновения в послеоперационном периоде осложнений, при условии что продолжительность ТП превышала 7,5 часа, составило 5,21 [95% ДИ 1,88–14,42; $p = 0,002$]. Отношение шансов воз-

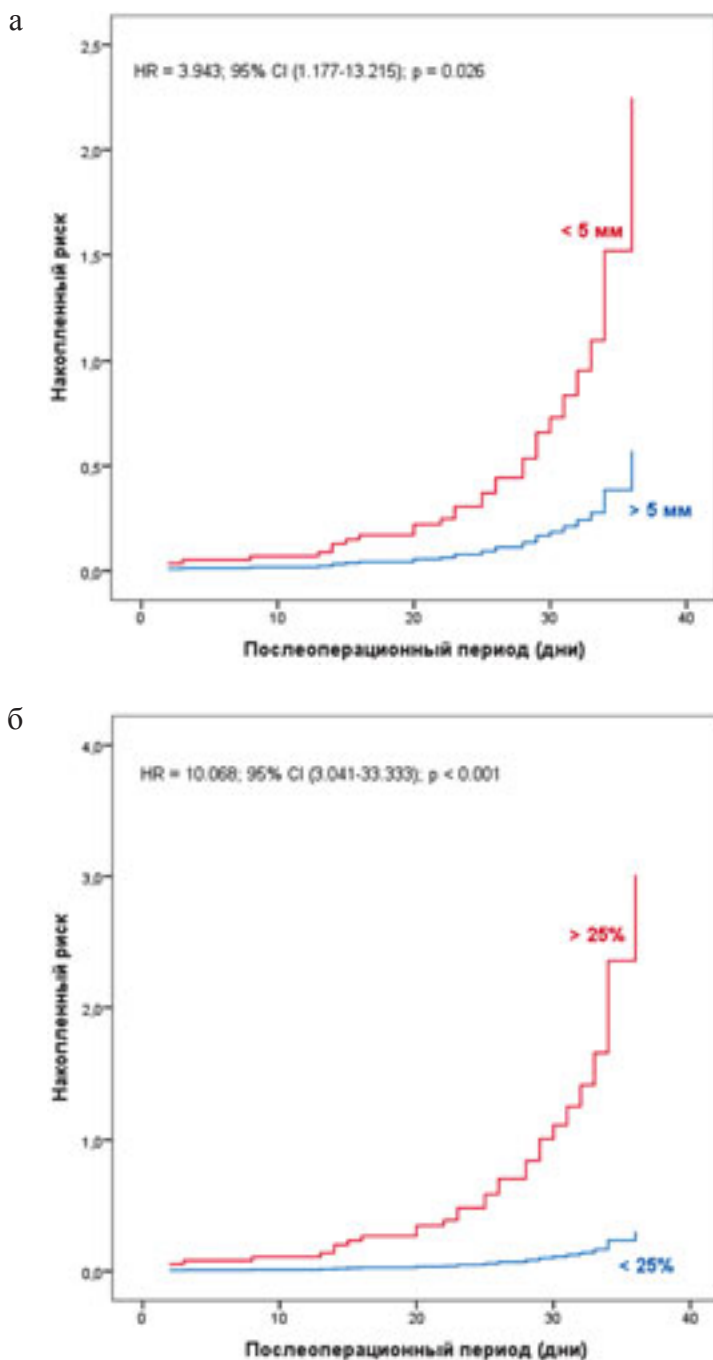


Рис. 17. Модель пропорциональных рисков Кокса. Функция накопленного риска. Сравнительная оценка влияния на развитие осложнений после операции: а – диаметра печеночной артерии; б – выраженности стеатоза трансплантата

никновения в послеоперационном периоде осложнений, при условии что объем интраоперационной кровопотери превышал 1900 мл, оказалось равным 2,22 [95% ДИ 1,22–2,03; $p = 0,038$] (рис. 18).

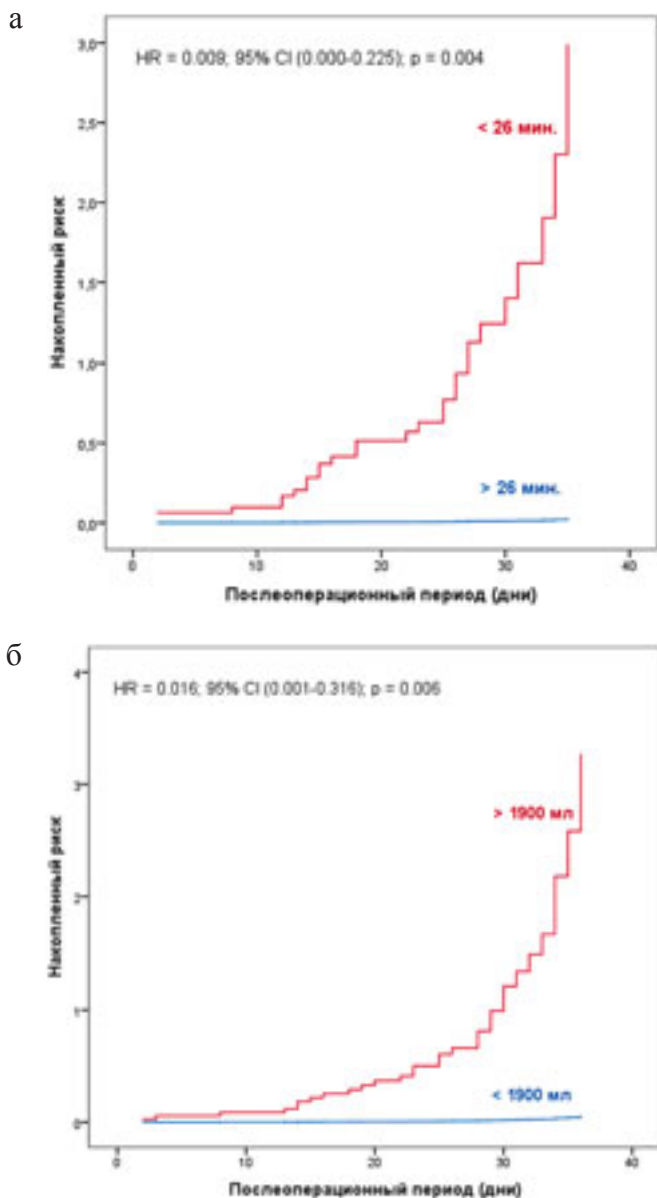
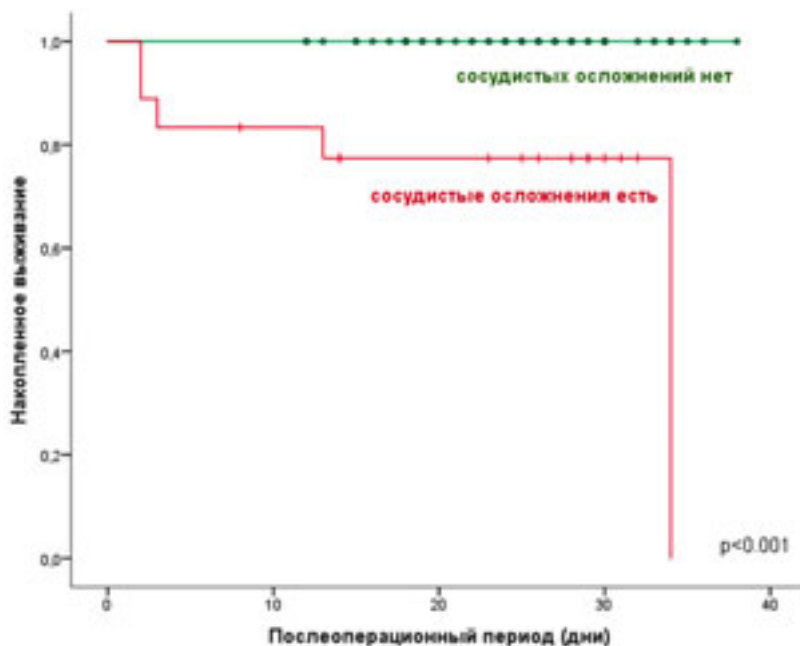


Рис. 18. Модель пропорциональных рисков Кокса. Функция накопленного риска. Сравнительная оценка влияния на развитие осложнений после операции:
а – продолжительности трансплантации печени;
б – объема интраоперационной кровопотери

В структуре причин летального исхода в раннем периоде после ТП преобладали сосудистые осложнения (37,5%). Они оказывали значимое влияние на негативный исход ТП ($\chi^2_{(1)} = 9,42$; $p = 0,002$), и в случае их возникновения мы фиксировали рост риска смерти, превышающего 25% порог к 15-м суткам после операции (рис. 19).



**Рис. 19. Каплан–Мейер. Функция накопленного выживания.
Оценка выживаемости больных при развитии
в послеоперационном периоде сосудистых осложнений**

Госпитальная послеоперационная летальность тех пациентов, кто отбирался на ТП с учетом стандартных критериев, и тех, кто был отобран по оригинальным индексам, не имела статистически значимого различия ($p = 0,905$). Это свидетельствовало об отсутствии влияния предлагаемых критериев для отбора больных из ЛОТП на летальный исход после ТП. Мы установили, что основными причинами смерти реципиентов печени после операции являются хирургические осложнения.

Таким образом, основным объективным фактором, определяющим группу приоритета кандидатов на ТП, является риск смерти больных ЦП.

При оценке риска смерти могут быть использованы как стандартный индекс MELD-Na, так и модифицированные индексы MNHE и AFMLT, однако их применение должно быть четко регламентировано.

Для пациентов, находящихся в ЛОТП не более трех месяцев, при их отборе на ТП следует ориентироваться на показатель риска смерти, рассчи-

танный исходя из значений индекса MELD-Na. Если отбор на ТП осуществляется среди тех больных, кто находится в ЛОТП не менее трех месяцев, но не более двенадцати месяцев, риск смерти необходимо рассчитывать исходя из значений индекса MNHE. Для тех же пациентов, чье пребывание в ЛОТП превышает двенадцать месяцев, риск смерти должен определяться исходя из значений индекса AFMLT (рис. 20).

Индексы оценки тяжести цирроза печени при разных сроках пребывания в ЛОТП

до 3 мес.		от 3 до 12 мес.		более 12 мес.	
MELD-Na		MNHE		AFMLT	
Баллы	Риск смерти	Баллы	Риск смерти	Баллы	Риск смерти
> 40	71,3%	> 6	82%	> 13	98%
30-39	52,6%	5-6	57%	12-13	88%
20-29	19,6%	3-4	26%	10-11	70%
10-19	6,0%	< 3	6%	8-9	44%
< 9	1,9%			6-7	29%
				< 6	17%

Рис. 20. Таблица определения групп трансплантационного приоритета

Новые прогностические индексы (MNHE и AFMLT) обеспечивают статистически доказанную прогностическую точность в отношении оценки неблагоприятного исхода у больных ЦП. Подтверждением эффективности разработанных индексов является совпадение прогнозируемого риска смерти с реальной смертностью больных в 76 и 83% случаев.

Выводы

1. Показатель смертности в листе ожидания трансплантации печени неоднороден во времени и имеет три подъема, приходящиеся на первые три месяца, первые полгода и два года ожидания трансплантации печени ($\chi^2(2) = 74,4$; $p < 0,001$).
2. Прогностическая способность индекса MELD-Na при оценке тяжести ЦП ограничена временным интервалом, не превышающим трех месяцев ($\chi^2_{(1)} = 53,31$; $p < 0,001$).
3. Независимыми предикторами, оказывающими значимое влияние на риск смерти в листе ожидания трансплантации печени в первые три месяца, являются: MELD-Na ($p < 0,05$); от 3 до 12 месяцев – степень печеночной энцефалопатии и MELD-Na ($p < 0,05$); свыше 12 месяцев – возраст больного, острая печеночная недостаточность, развившаяся на фоне хронической, MELD-Na, количество лейкоцитов и тромбоз воротной вены ($p < 0,05$).

4. В первые три месяца ожидания трансплантации печени риск смерти возрастает, если MELD-Na превышает 28 баллов ($p = 0,002$); с 3-го по 12-й месяц риск смерти возрастает, если печеночная энцефалопатия имеет 3-ю и 4-ю степень, а MELD-Na превышает 27 баллов ($p < 0,001$); риск смерти возрастает спустя 12 месяцев, если пациент старше 55 лет ($p < 0,019$), MELD-Na свыше 20 баллов ($p < 0,043$), количество лейкоцитов менее $2,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$), имеется острая печеночная недостаточность, развившаяся на фоне хронической ($p < 0,001$), и тромбоз воротной вены ($p = 0,011$).
5. Новые модели, разработанные с помощью математического моделирования, позволяют повысить точность оценки риска смерти больных в листе ожидания трансплантации печени и определить трансплантационный приоритет с точностью 76% для индекса MNHE и 83% для индекса AFMLT.
6. Предлагаемая стратегия отбора больных для трансплантации за счет использования разработанных критериев оценки тяжести состояния пациентов позволяет сократить число неблагоприятных исходов в период ожидания трансплантации печени ($p < 0,05$), при этом госпитальная летальность в посттрансплантационном периоде не повышается ($p = 0,905$).

Практические рекомендации

1. Оценку тяжести состояния и расчет риска смерти больных циррозом печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени менее трех месяцев, следует проводить по индексу MELD-Na. Приоритетному отбору подлежат пациенты с наибольшим риском смерти.
2. Оценку тяжести состояния и расчет риска смерти больных циррозом печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени от трех до двенадцати месяцев, следует проводить по индексу MNHE. Приоритетному отбору подлежат пациенты с наибольшим риском смерти.
3. Оценку тяжести состояния и расчет риска смерти больных циррозом печени, находящихся в листе ожидания трансплантации печени более двенадцати месяцев, следует проводить по индексу AFMLT. Приоритетному отбору подлежат пациенты с наибольшим риском смерти.
4. Если отбор на трансплантацию печени проводить среди пациентов, сроки пребывания в листе ожидания трансплантации печени которых разнятся, приоритет следует отдать больному, риск смерти которого выше по отношению к другим претендентам.
5. Исходя из оценки риска смерти больных должны быть определены сроки проведения трансплантации печени, то есть установлена неотложность оперативного вмешательства.

6. У находящихся в листе ожидания трансплантации печени больных с крайне высоким риском смерти трансплантацию печени следует проводить до 3 месяцев с момента внесения в лист ожидания.
7. У находящихся в листе ожидания трансплантации печени больных со средним риском смерти трансплантацию печени целесообразно выполнять до 9 месяцев с момента внесения в лист ожидания.
8. Больные с наименьшим риском смерти могут быть прооперированы в любое время с момента внесения в лист ожидания трансплантации печени, при условии, если нет иных, соответствующих донору кандидатов в более тяжелом состоянии.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Коробка В.Л., Шаповалов А.М., **Кострыкин М.Ю.**, Коробка Р.В. Хирургическое лечение хронического панкреатита, осложненного кистами поджелудочной железы // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2012. – № 4 (28). – С. 27–30.
2. Коробка В.Л., Громыко Р.Е., Глушкова О.И., **Кострыкин М.Ю.** Оптимизация хирургического лечения хронического панкреатита с преимущественным поражением головки поджелудочной железы // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2012. – № 1. – С. 36–44.
3. Коробка В.Л. Результаты первых трансплантаций в областной клинической больнице Ростова-на-Дону / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19, № S. – С. 39.
4. Коробка В.Л. Первые результаты трансплантации органов в Ростовской областной клинической больнице / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Микутин, Е.С. Пак // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № S. – С. 185.
5. Коробка В.Л. Реализация программы трансплантации органов в Ростовской областной клинической больнице / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, Е.С. Пак, Р.В. Коробка, А.В. Микутин // 8-я научно-практическая конференция с международным участием «Московская трансплантология. Научная школа по трансплантации печени»: материалы научно-практической конференции / ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». – М., 2018. – С. 35–37.
6. Коробка В.Л. Оценка четырехлетнего ведения листа ожидания трансплантации печени Ростовской области: перспективы снижения смертности в листе / В.Л. Коробка, Е.С. Пак, А.М. Шаповалов, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Ткачев // Медицинский вестник Юга России. – 2019. – Т. 10. – № 3. – С. 32–39.
7. Пак Е.С. Варикозные кровотечения: исходы в листе ожидания трансплантации печени региона / Е.С. Пак, В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Ткачев, Н.И. Балин, А.М. Шаповалов, А.М. Бабиева // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2019. – Т. 29. – № 5. – С. 53.

8. Пак Е.С. Этиология цирроза печени, влияние на исход в листе ожидания трансплантации печени / Е.С. Пак, В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Ткачев, Н.И. Балин, А.М. Шаповалов, А.М. Бабиева // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2019. – Т. 29. – № 5. – С. 53.
9. Коробка В.Л. Выбывание из листа ожидания кандидатов на трансплантацию печени (делистинг) вследствие рекомпенсации хронических заболеваний печени – характеристика пациентов и предикторы делистинга в проспективном исследовании / В.Л. Коробка, В.Д. Пасечников, Е.С. Пак, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Ткачев, Н.И. Балин, Р.Е. Громыко, Р.В. Коробка, А.М. Шаповалов, А.М. Бабиева, А.В. Микутин, В.С. Агабекян // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 4. – С. 26–35.
10. Коробка В.Л. Развитие рекомпенсации у больных HCV-ассоциированным декомпенсированным циррозом печени после терапии современными препаратами прямого противовирусного действия / В.Л. Коробка, Е.С. Пак, В.Д. Пасечников, **М.Ю. Кострыкин** // Доказательная гастроэнтерология. – 2019. – Т. 8. – № 4. – С. 11–21.
11. Коробка В.Л. Рекомпенсация пациентов с терминальными заболеваниями печени – трудная, но реально достижимая цель терапии / В.Л. Коробка, Е.С. Пак, В.Д. Пасечников, **М.Ю. Кострыкин** // Эффективная фармакотерапия. – 2019. – Т. 15. – № 28. – С. 18–26.
12. Коробка В.Л. Определение приоритетности в выборе пациентов из листа ожидания для трансплантации печени / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, В.Д. Пасечников, Е.С. Пак // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 26–35.
13. Канцуров Р.Н. Хирургическое лечение осложненных форм цирроза печени: современные представления и перспективы (обзор литературы) / Р.Н. Канцуров, Н.Г. Сапронова, Э.В. Светова, Д.С. Калинин, Д.В. Стагнийев, **М.Ю. Кострыкин** // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Естественные и технические науки. – 2020. – № 11. – С. 169–175.
14. Коробка В.Л. Оценка четырехлетнего опыта ведения пациентов с кровотечениями из варикозно расширенных вен пищевода в листе ожидания трансплантации печени в Ростовской области / В.Л. Коробка, Е.С. Пак, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Ткачев, Н.И. Балин, А.М. Шаповалов, А.М. Бабиева // Вестник ВолГМУ. – 2020. – Т. 3. – № 75. – С. 151–155.
15. Коробка В.Л. Трансплантация органов в Ростовской области: результаты пяти лет работы / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Микутин, Р.О. Даблиз, Е.С. Пак, О.В. Котов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 24.
16. Коробка В.Л. Делистинг вследствие рекомпенсации: опыт одного центра / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, Е.С. Пак // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 67.
17. Коробка В.Л. Собственные результаты трансплантации печени в Ростовской области / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.В. Микутин, Р.О. Даблиз, Е.С. Пак // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 68.

18. Коробка В.Л. Лечение стеноза и тромбоза печеночной артерии после ОТП / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, О.В. Котов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 75.
19. Коробка В.Л. Лечение тромбоза печеночной артерии после трансплантации печени / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, О.В. Котов, Р.О. Даблиз, Е.С. Пак // Трансплантология. – 2020. – Т. 12. – № 4. – С. 295–300.
20. Коробка В.Л. Трансплантация печени в Ростовской области: пятилетний опыт / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, Е.С. Пак, Р.О. Даблиз, О.В. Котов, А.М. Шаповалов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 35–43.
21. Коробка В.Л. Лечение кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода у больных из листа ожидания трансплантации печени / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.М. Шаповалов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 58–64.
22. Коробка В.Л. Прогноз смерти больных терминальным циррозом печени: новая модель оценки тяжести заболевания / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, Е.С. Пак, Р.О. Даблиз, А.М. Шаповалов // Инновационная медицина Кубани. – 2020. – № 2. – С. 21–27.

Патенты

1. Патент № 2736905 Российская Федерация, МПК А61В 17/00 (2006.01). Способ лечения тромбоза и стеноза артериального анастомоза после трансплантации печени; № 2020118245; заявл. 25.05.2020; опубл. 23.11.2020 / Коробка В.Л., Шаповалов А.М., **Кострыкин М.Ю.**, Малеванный М.В., Даблиз Р.О., Котов О.В.; заявитель Коробка В.Л. – 12 с.: ил. – Текст: непосредственный.
2. Патент № 2737582 Российская Федерация, А61В 5/00 (2006.01): G01N 33/49 (2006.01): G01N 33/50 (2006.01). Способ оценки риска неблагоприятного исхода для больного циррозом, находящегося в листе ожидания трансплантации печени; № 2020113772; заявл. 03.04.2020; опубл. 01.12.2020 / Шаповалов А.М., Коробка В.Л., **Кострыкин М.Ю.**, Пак Е.С.; заявитель Шаповалов А.М. – 19 с.: ил. – Текст: непосредственный.

Главы в монографиях

1. Коробка В.Л. Варикозные кровотечения у больных циррозом печени и их хирургическое лечение / В.Л. Коробка, **М.Ю. Кострыкин**, А.М. Шаповалов. – Ростов н/Д: РостГМУ, 2020. – 76 с.: ил.; 21 см. – Библиогр.: с. 59–76. – 100 экз. – ISBN 978-5904079-22-2.

Список сокращений

AFMLT	– (англ., Age – Failure of liver – MELD-Na – Leukocytes – Thrombosis of Portal Vein Index) индекс тяжести цирроза печени, учитывающий: возраст; острую печеночную недостаточность, развившуюся на фоне хронической; значение индекса MELD-Na; количество лейкоцитов; наличие тромбоза воротной вены
AUC	– (англ., Area Under Curve) площадь под кривой
CI	– (англ., Confidence Interval) доверительный интервал
CTP	– (англ., Child-Turcotte-Pugh score) Чайлда–Тюркотта–Пью классификация
F	– точный критерий Фишера
HR	– (англ., Hazard Ratio) коэффициент риска
MELD	– (англ., Model for End Stage Liver Diseases) модель оценки тяжести конечной стадии заболеваний печени
MELD-Na	– то же, что и MELD, но с учетом сывороточного натрия [with Sodium]
MNHE	– (англ., MELD-Na-Hepatic Encephalopathy index) индекс оценки тяжести цирроза печени, учитывающий: значение индекса MELD-Na и степень печеночной энцефалопатии
p	– уровень статистической значимости
R ²	– коэффициент детерминации
r _p	– коэффициент корреляции Пирсона
ROC	– (англ., Receiver Operating Characteristic) рабочая характеристика приемника – график, позволяющий оценить качество бинарной классификации
z	– коэффициент риска
χ ²	– критерий хи-квадрат Пирсона
ВРВП	– варикозно расширенные вены пищевода
ГЦК	– гепатоцеллюлярная карцинома
ЛОТП	– лист ожидания трансплантации печени
ДИ	– доверительный интервал
ИМТ	– индекс массы тела
ОХПН	– острая печеночная недостаточность, развившаяся на фоне хронической
ПА	– печеночная артерия
ПЭ	– печеночная энцефалопатия

ТВВ	– тромбоз воротной вены
ТП	– трансплантация печени
ЦП	– цирроз печени
ЩФ	– щелочная фосфатаза

**МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К РЕГЕНЕРАЦИИ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ

Басок Ю.Б., Севастьянов В.И.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Важнейшими проблемами здравоохранения в индустриальном обществе являются повреждение и дегенерация периферических или центральных (позвоночных) суставов, что связано с ограниченными возможностями ткани к регенерации. Известно, что остеоартроз является одной из наиболее распространенных болезней опорно-двигательного аппарата и создает огромное бремя для систем здравоохранения и социального обеспечения во всем мире [Safiri S. et al., 2020, Mobasheri A. et al., 2015]. Остеоартроз занимает 5-е место по числу лет потери трудоспособности среди населения в странах с высоким уровнем дохода и 9-е место по числу лет потери трудоспособности в странах с низким и средним уровнем дохода [World Health Organization. Global Burden of Disease Report. Part 3, 2004]. Только в России им страдает 10–12% населения. Остеоартроз чаще всего встречается в возрасте старше 40 лет, однако признаки остеоартроза могут появиться и раньше, особенно после травм, затрагивающих суставы. Остеоартроз определяют при рентгенологическом исследовании у 50% людей в возрасте 55 лет и у 80% людей старше 75 лет. Люди, которые имеют избыточный вес или чья деятельность сопряжена с большой нагрузкой суставов, также подвержены повышенному риску развития остеоартроза [Midgley J. et al., 2021, Fang T. et al., 2021].

Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины рассматриваются как одно из наиболее перспективных терапевтических решений проблемы восстановления структуры и функций поврежденных хрящевых тканей [Аргучинская Н.В., 2021]. Отметим, что метод аутохондротрансплантации имеет ряд недостатков, основные из которых – травматичность биопсии здорового участка хряща, сложность экспансии и возможность дедифференцировки клеток [Harris J.D. et al., 2011].

Одним из многообещающих подходов к лечению дефектов хрящевой ткани представляется малоинвазивное внутрисуставное введение *in situ* мезенхимальных стромальных клеток, способных к дифференцировке в хондрогенном направлении и продуцирующих факторы, стимулирующие внутренние регенеративные процессы в суставном хряще [Primorac D. et al., 2021]. В ряде исследований показано, что хондрогенный потенциал, также как и терапевтический потенциал секретома мезенхимальных стромальных клеток, зависит от их источника [Fisher J.N. et al., 2017]. Выбор оптимального источника мезенхимальных стромальных клеток, несомненно, повысит эффективность клеточной терапии для стимуляции регенерации суставного хряща при остеоартрозе, что является одной из актуальнейших проблем биомедицинской науки.

Для доставки и удержания клеток в месте повреждения хряща, а также для обеспечения клеткам условий для их жизнедеятельности в течение времени, достаточного для запуска процессов восстановления хрящевой ткани, используют биосовместимые и биорезорбируемые матриксы [Севастьянов В.И., 2014, Басок Ю.Б., 2016]. Наибольший, с нашей точки зрения, интерес представляют собой децеллюляризованные носители, получаемые путем удаления клеток и их фрагментов из ткани с максимальным сохранением структуры и состава естественного внеклеточного матрикса [Crao P.M. et al., 2011]. Показано, что децеллюляризованный хрящ не только поддерживает адгезию и пролиферацию клеток, но и стимулирует дифференцировку МСК в функциональные хондроциты [Sun Y., 2018]. Однако эффективное удаление клеточных элементов при децеллюляризации хрящевой ткани сопровождается изменением структуры и состава внеклеточного матрикса, проявляющегося чаще всего снижением содержания гликозаминогликанов [Benders K.E. et al., 2019]. Анализ литературы указывает на отсутствие сравнительных исследований способов децеллюляризации хряща, включающих ультразвук, резкие перепады температуры, обработку сверхкритическими флюидами, что затрудняет выбор оптимального подхода для получения матрикса, обеспечивающего наиболее благоприятный эффект. Отметим, что микронизация децеллюляризованного хряща предоставит возможность инъекционного введения и увеличит площадь эффективной поверхности для адгезии и пролиферации клеток, а также обеспечит возможность получения гидрогеля при растворении. Отметим, что описанные в литературе исследования децеллюляризованного хряща *in vivo* малоинформативны, ограничиваются лишь имплантацией подкожно, внутрибрюшинно и в дефект, созданный хирургически в здоровом хряще, что не позволяет сделать окончательный вывод о перспективности применения матрикса в регенеративной медицине. Исследование влияния децеллюляризованного хряща на поврежденный хрящ на наиболее подходящей экспериментальной модели остеоартроза позволит восполнить этот пробел.

Суммируя все вышесказанное, отметим, что обозначенная проблема весьма актуальна и социально значима. Ее решение позволит не только серьезно продвинуться в развитии технологий регенеративной терапии поврежденной хрящевой ткани при остеоартрозе, но и при разработке клеточно-инженерных конструкций в других областях тканевой инженерии.

Цель исследования

Разработка экспериментальных подходов к регенерации и тканевой инженерии суставного хряща.

Задачи исследования

1. Разработать технологию децеллюляризации суставного хряща свиньи для получения клеточного носителя – тканеспецифического матрикса с максимальным сохранением архитектоники и состава внеклеточного матрикса.
2. Выбрать оптимальный источник мезенхимальных стромальных клеток человека с точки зрения его доступности, хондрогенного потенциала и секреторного влияния на пролиферативную активность первичных хондробластов человека при культивировании с тканеспецифическим микродисперсным матриксом.
3. Доказать биосовместимость разработанного тканеспецифического микродисперсного матрикса из децеллюляризованного суставного хряща в условиях *in vitro* и *in vivo*.
4. Провести оценку матриксных свойств коллагенсодержащих биомиметиков.
5. Исследовать функциональную эффективность клеточно-инженерных конструкций на основе коллагенсодержащих миметиков внеклеточного матрикса на экспериментальной модели остеоартроза.
6. Разработать малогабаритный перфузионный биореактор для «выращивания» клеточно-инженерных конструкций органов и тканей *in vitro*.
7. Доказать возможность создания тканевого эквивалента хрящевой ткани в перфузионном биореакторе.

Научная новизна

1. Разработан протокол получения тканеспецифического микродисперсного матрикса из микронизированных фрагментов суставного хряща свиньи с сохранением архитектоники и максимально возможным содержанием фибриллярного коллагена и гликозаминогликанов.
2. Показана положительная роль гликозаминогликанов в децеллюляризованном хряще в поддержании жизнеспособности и хондрогенной

- дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани в составе клеточно-инженерных конструкций.
3. Определен источник клеточной компоненты, наиболее подходящий для создания клеточно-инженерных конструкций на основе коллагенсодержащих миметиков внеклеточного матрикса.
 4. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* установлено, что разработанный протокол децеллюляризации позволяет получить тканеспецифический матрикс, ксеногенные свойства которого не влияют на его биосовместимость.
 5. Доказано, что исследуемые коллагенсодержащие биомиметики внеклеточного матрикса способны эффективно поддерживать адгезию, пролиферацию и дифференцировку в хондрогенном направлении мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека.
 6. Показано, что тканеспецифический микродисперсный матрикс из децеллюляризованного суставного хряща поддерживает пролиферацию хондробластов человека с последующей дифференцировкой в хондроциты и синтез коллагена и гликозаминогликанов.
 7. На экспериментальной модели остеоартроза коленного сустава кролика показано преимущество гидрогелевого биомиметика внеклеточного матрикса для стимуляции регенерации поврежденного хряща в составе клеточно-инженерной конструкции по сравнению с тканеспецифическим биомиметиком.
 8. Разработан малогабаритный перфузионный биореактор, позволяющий в стерильных условиях при контролируемой температуре, скорости потока и pH культуральной среды проводить длительные эксперименты по выращиванию тканевых эквивалентов.
 9. Показана целесообразность применения тканеспецифического микродисперсного матрикса при создании тканевого эквивалента хрящевой ткани в статических условиях и в перфузионном биореакторе, по сравнению с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гелем.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследований *in vivo* позволяют рекомендовать разработанный персонализированный подход, основанный на применении функционально активной клеточно-инженерной конструкции, включающей биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель и мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека, к полноразмерным доклиническим испытаниям с целью определения возможности дальнейшего его использования в клинике в качестве стимуляции регенерации поврежденного суставного хряща.

Данные проведенных исследований указывают на возможность использования тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного хряща свиньи, полученного по разработанному протоколу, для создания тканевых эквивалентов хряща с мезенхимальными стромальными клетками человека и хондроцитами человека.

Анализ полученных в перфузионном биореакторе клеточно-инженерных конструкций, включающих тканеспецифический матрикс из децеллюляризованного хряща и мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека, указывает на возможность их использования в качестве модели суставного хряща *in vitro* и целесообразность их тестирования *in vivo* для замещения участков повреждения суставного хряща с целью определения возможности применения технологии в клинике.

Разработанный биореактор можно использовать для различных областей тканевой инженерии и регенеративной медицины при формировании клеточно-инженерных конструкций, исследовании биосовместимости различных материалов, а также для изучения влияния различных факторов на эти процессы.

Методология и методы исследования

В основе методологии диссертационного исследования лежали труды отечественных и зарубежных авторов в области тканевой инженерии и регенеративной медицины хряща. Для решения поставленных задач использован комплекс физико-химических, культуральных, гистологических, биохимических и биологических методов исследования с привлечением световой, флуоресцентной и сканирующей электронной микроскопии, лазерной дифракции, гистологического и иммуногистохимического окрашивания и тест-наборов для количественного определения содержания гликозаминогликанов, коллагена и ДНК. Оценку биологической безопасности микродисперсного тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща свиньи проводили методами *in vitro* и *in vivo*, рекомендованными серией межгосударственных стандартов ГОСТ ISO 10993 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий». Функциональную эффективность полученных образцов клеточно-инженерных конструкций изучали на экспериментальной модели остеоартроза коленных суставов кролика.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Оптимальным протоколом децеллюляризации микрочастиц суставного хряща свиньи для изготовления тканеспецифического матрикса по содержанию ДНК, гликозаминогликанов и коллагена и способности поддерживать хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека является режим, вклю-

- чающий 30 минут воздействия ультразвуком в сутки при обработке поверхностно-активными веществами и инкубацию в растворе ДНКазы.
2. Отсутствие *in vitro* цитотоксичного действия, гемолитической активности и генотоксичности, а *in vivo* местного раздражающего и общетоксического действия, репродуктивной токсичности указывает на возможность использования тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного хряща свиньи для создания клеточно- и тканеинженерных конструкций хрящевой ткани человека.
 3. Мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека и микрочастицы тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща свиньи являются оптимальной системой для создания тканевого эквивалента хряща *in vitro*, обеспечивающей в клеточно-инженерной конструкции равномерность распределения жизнеспособных клеток, продуцирующих собственный внеклеточный матрикс, содержащий гликозаминогликаны и коллаген II типа.
 4. Сохранение гликозаминогликанов в составе тканеспецифического матрикса при децеллюляризации суставного хряща свиньи способствует процессам пролиферации и хондрогенной дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека при культивировании в хондрогенной дифференцировочной среде.
 5. Внутрисуставное инъекционное введение мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека вместе с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем лабораторным животным с экспериментальной моделью остеоартроза обеспечивает стимуляцию регенерации суставного хряща.
 6. Разработанный малогабаритный перфузионный биореактор позволяет длительно (до 25 суток) при сохранении стерильности культивировать клетки на носителях/матриксах различной формы и природы (гидрогели, губки, мелко- и микродисперсные частицы) в условиях контролируемого потока, мониторинга pH, содержания газов и основных метаболитов в культуральной среде.
 7. Разработанный перфузионный биореактор дает возможность при контролируемых условиях выращивать тканевой биоэквивалент хряща из клеточно-инженерной конструкции, состоящей из микродисперсных частиц из децеллюляризованного хряща свиньи, мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека и хондрогенной дифференцировочной среды.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечивается четкой постановкой задач, достаточным объемом исследования, применением современных лабораторных методов исследования, корректной

статистической обработкой данных и всесторонней оценкой полученных результатов в сравнении с данными научной литературы.

Апробация работы состоялась 6 августа 2021 года на совместной конференции научных и клинических подразделений Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Основные положения и результаты диссертации были доложены и обсуждены на III Национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2–4 октября 2017 г.); 14th Sino-Russia symposium on advanced materials and technologies (Китай, Санья, 29 ноября – 2 декабря 2017 г.); Sechenov International Biomedical Summit (Москва, 21–23 мая 2018 г.); IX Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 17–19 сентября 2018 г.); IV междисциплинарном научном форуме с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии» (Москва, 27–30 ноября 2018 г.); Международной конференции «Инновационные исследования в области биомедицины» памяти В.Н. Ярыгина (Москва, 28 марта 2019 г.); Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting (Греция, Родос, 27–31 мая 2019 г.); III Сеченовском международном биомедицинском саммите (SIBS-2019) (Москва, 20–21 мая 2019 г.); X научно-практической конференции с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (Ростов-на-Дону, 30 сентября – 6 октября 2019 г.); IV Национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 7–9 октября 2019 г.); IV Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 20–23 ноября 2019 г.); Конгрессе молодых ученых Европейского общества искусственных органов «CloudyESAО» (7–11 сентября, 2020 г.); IV Международном конгрессе ассоциации ревмоортопедов (Москва, 18–19 сентября 2020 г.); X Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 5–7 октября 2020 г.); VII Троицкой конференции с международным участием «Медицинская физика» (Троицк, 19–21 октября 2020 г.); Шестом междисциплинарном научном форуме с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии» (Москва, 23–26 ноября 2020 г.); IV Сеченовском международном биомедицинском саммите (SIBS-2020) (Москва, 17–18 ноября 2020 г.); XI научно-практической конференции «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (Новосибирск, 21–25 июня 2021 г.); V Международном конгрессе ассоциации ревмоортопедов (Москва, 18–19 сентября 2021 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практику отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России), лаборатории клеточной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», отделения прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Испытательного лабораторного центра автономной некоммерческой организации «Институт медико-биологических исследований и технологий», лаборатории сверхкритических флюидных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова Российской академии наук, а также в образовательный процесс кафедры трансплантологии и искусственных органов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 59 научных работ, в том числе 26 статей: из них 22 – в российских и зарубежных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук. Получено 2 патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 285 страницах машинописного текста и состоит из введения, семи глав, содержащих литературный обзор, описание используемых материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка используемой литературы. Указатель литературы содержит 40 отечественных и 309 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 36 таблицами и 112 рисунками, включает 2 формулы. Содержит 4 приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Объекты исследования

Бедренные и коленные свиные суставы были получены на бойне (ООО «АПК «ПРОМАГРО», г. Старый Оскол) после забоя здоровых животных (вес свиньи около 120 кг) в соответствии с Европейской директивой 64/433/ЕЕС. Для получения инъекционной формы матрикса фрагменты суставного хряща свиньи измельчали с использованием криомельницы CryoMill (Retch GmBH, Германия), позволяющей производить помол в условиях низких температур (-196°C).

Децеллюляризацию осуществляли обработкой микрочастиц в трех сменах фосфатного буфера, содержащего 0,1% додецилсульфата натрия (SDS) и повышающуюся концентрацию Тритона X-100 (1, 2 и 3% соответственно) при комнатной температуре и периодическом перемешивании. Высокая плотность и отсутствие пор в суставном хряще определили предпочтительность микронизации исходной ткани и необходимость включения помимо обработки поверхностно-активными веществами (ПАВ) в протокол децеллюляризации дополнительных физических и биологических методов, среди которых были рассмотрены обработка гипо- и гипертоничными растворами ПАВ, резкие изменения температуры, атмосфера сверхкритических флюидов, ультразвук (УЗ), лиофилизация и инкубация в растворе ДНКазы. Отмывку матрикса от ПАВ осуществляли в бидистиллированной воде. Для стерилизации матрикса использовали гамма-облучение в дозе 1,5 Мрад.

Распределение микрочастиц хряща по размерам в суспензии определяли с помощью лазерного дифракционного анализатора SALD-7101 (Shimadzu, Япония).

Для количественного определения недецеллюляризованных, децеллюляризованных, содержащих отдельные клетки, и полностью децеллюляризованных микрочастиц хряща проводили окрашивание в планшете раствором специфического для двуцепочечной ДНК флуоресцентного красителя 4',6-диамиидно-2-фенилиндола (рис. 1).

Морфологию поверхности образцов изучали совместно с сотрудниками лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней» методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием лантаноидного контрастирования в растворе BioREE (ООО «Глаукон», Россия).

Для гистологических исследований образцы окрашивали гематоксилином и эозином, ализановым синим и по методу Массона.

Иммуногистохимическую окраску срезов проводили с использованием первичных антител к коллагену II типа (NCL-COLL-IIp, Novocastra™,

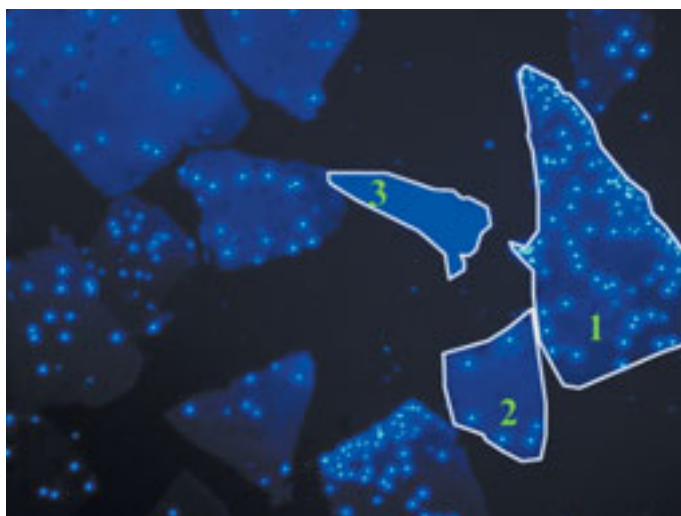


Рис. 1. Микрочастицы хряща. Окраска 4,6-диамиидно-2-фенилиндолом: 1 – недецеллюляризованные микрочастицы; 2 – децеллюляризованные микрочастицы, содержащие отдельные клетки; 3 – полностью децеллюляризованные микрочастицы, ×200

Leica Microsystems) и связанных с биотином вторичных антител (RE7108, Leica Microsystems). Для визуализации коллагена II типа использовали Novocastra™ Concentrated Peroxidase Detection System (RE7130-K, Leica Microsystems).

Биохимический анализ состава экспериментальных образцов тканеспецифического матрикса и клеточно-инженерных конструкций (КИК) хряща включал анализ содержания ДНК, гликозаминогликанов (ГАГ) и коллагена. Экстракцию ДНК осуществляли при помощи набора реактивов DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Германия). Для количественного определения ДНК использовали флуоресцентный краситель™ PicogreenQuant-iT (Invitrogen, США). Для количественного анализа ГАГ в образцах, лизированных в растворе папаина (Sigma-Aldrich, США), использовали тиазиновый краситель 1,9-диметилметиленовый синий (Sigma-Aldrich, США). Содержание фибриллярного коллагена (коллаген I, II, III, V типов) определяли с помощью набора Sircol™ Soluble COLLAGEN Assay (Biocolor, Великобритания) в пробах, лизированных пепсином (Sigma-Aldrich, США).

Биологическую безопасность экспериментальных образцов тканеспецифического матрикса исследовали *in vitro* и *in vivo* совместно с АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий». Исследования цитотоксичности на культуре мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека (МСК ЖТч) и гемолитической активности с использо-

ванием цитратной крови кролика *in vitro* были проведены в соответствии с ГОСТ ISO 10993-5-2011 и ГОСТ ISO 10993-4-2011. Исследование генотоксического действия децеллюляризованного хряща свиньи (ДХс) проводили в соответствии с ГОСТ ISO 10993-3–2018, применяя мутационный тест на *Salmonella typhimurium*. Местное действие (наблюдение 6 месяцев) и общетоксическое действие (наблюдение 2 месяца) ксеногенного матрикса исследовали при имплантации в мышечную ткань бедра взрослых крыс в соответствии с ГОСТ ISO 10993-6-2011 и ГОСТ ISO 10993-11–2011. Для исследования репродуктивной токсичности ДХс на аутбредных крысах изучали плоды на 20-е сутки беременности, оценивали количество желтых тел в яичниках, количество живых и погибших плодов, развитие потомства в течение 5 суток, органы репродуктивной системы в соответствии с ГОСТ ISO 10993-3–2018.

Культуры клеток МСК пульпы молочного зуба и МСК Вартонова студня пуповины, а также хондробласты реберного хряща человека, использованные в качестве положительного контроля, были получены из лабораторной коллекции клеточных культур лаборатории клеточной биологии ИБМХ. Источником МСК ЖТч была подкожная жировая клетчатка здорового донора, взятая у него при информированном добровольном согласии. Исследование было проведено в соответствии с руководящими принципами Хельсинкской декларации и одобрено локальным этическим комитетом при ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (15 ноября 2019 г. № 151119-1/1э). Высокое содержание мультипотентных клеток мезенхимального происхождения в полученных культурах МСК ЖТч было подтверждено совместно с лабораторией клеточной биологии ИБМХ данными проточной цитофлуориметрии: МСК обладали сходным фенотипом CD29+, CD34–, CD44+, CD49b+, CD45–, CD73+, CD90+, HLADR–. Также для подтверждения наличия в культуре МСК ЖТч мультипотентных клеток были проведены эксперименты по ее дифференцировке в хондрогенном, адипогенном и остеогенном направлениях.

Действие секрета МСК из различных источников на пролиферацию хондробластов человека проводили и оценивали, используя кондиционированную среду от МСК и в эксперименте по непрямому сокультивированию в трансвеллах с размером пор 3 мкм (SPL Lifesciences, с PC мембраной). На дно нижней камеры наносили 5×10^4 МСК, а в верхнюю камеру помещали 5×10^4 хондробластов человека и 5 мг ДХс.

Биологические свойства образцов пригодного для инъекционного использования экспериментального клеточного носителя ДХс были изучены в сравнении с существующим аналогом – биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем (БМКГ) (АО «БИОМИР сервис», Россия), а также с композитным матриксом, представляющим собой смесь ДХс и БМКГ. Была доказана эффективность использования БМКГ в качестве матрикса в биомедицинских клеточных продуктах для

регенерации поврежденного суставного хряща, печени и поджелудочной железы (Севастьянов В.И., 2014).

Для оценки метаболической активности клеток исследовали митохондриальные дегидрогеназы с реактивом PrestoBlue (Invitrogen, США). Мониторинг жизнеспособности клеток проводили методом селективного флуоресцентного окрашивания живых и мертвых клеток Live/Dead Assay (Invitrogen, США) и Calcein AM (Invitrogen, США).

Для сравнения хондрогенного потенциала МСК и хондробласты культивировали в составе трехмерных микросфер, включающих 2×10^5 клеток. Во всех проводимых в статических условиях экспериментах с использованием матриксов КИК хряща состояли из 5×10^5 клеток и 5 мг микрочастиц ДХс или 0,25 мл БМКГ. Клетки культивировали в хондрогенной дифференцированной среде, которая включала DMEM HG (Gibco, США), 10% ITS+ (Corning, США), 1% пирувата натрия (Gibco, США), 0,25% аскорбат-2-фосфата (Sigma-Aldrich, США), 0,0001% дексаметазона (Sigma-Aldrich, США), 0,002% трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF- β 1) (PeproTech, США) и 1% антибиотика-антимикотика (Gibco, США).

Для оценки эффективности создаваемых КИК в качестве средства восстановления суставных дефектов была использована наиболее подходящая для этих целей *in vivo* модель, а именно кролики с экспериментальным адьювантным остеоартрозом (ОА) (Vallon R. et al., 2001). Манипуляции не причиняли животным боли и проводились в соответствии с российским законодательством: ГОСТ 33215-2014 (Руководство по размещению и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур) и ГОСТ 33216-2014 (Руководство по размещению и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами). Работа одобрена локальным этическим комитетом при ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (24 января 2020 г. № 240120-1/1э). Все животные были разбиты на 6 групп: 1 группа интактных кроликов ($n = 2$) и 5 групп кроликов ($n = 15$) были использованы для создания модели ОА. На 30-е сутки после моделирования ОА кроликам опытных групп в коленный сустав задней лапы вводили 1×10^6 МСК ЖТч, 0,5 мл БМКГ отдельно или с 1×10^6 МСК ЖТч, 0,5 мл ростовой культуральной среды без сыворотки с 5 мг ДХс отдельно или с 1×10^6 МСК ЖТч. Клетки смешивали с носителем за 3 часа до введения. Перед введением МСК кроликов иммуносупрессировали Сандиммуном (содержание активного вещества циклоспорина 50 мг/мл) в дозе 5 мг/кг. Для подтверждения развития артрита были проведены гематологические, рентгенологические и гистологические методы исследования.

Для длительного культивирования КИК в условиях потока использовали перфузионный биореактор оригинальной конструкции. Постоянную циркуляцию среды с заданной скоростью через 4 культуральные камеры обеспечивали два перистальтических насоса. Для контроля параметров условий

роста клеток в систему были установлены датчик давления («PendoTECH», США) и датчики кислорода, углекислого газа и pH (Polestar Technologies Inc., США).

Для морфологической оценки образцов в исследовании были использованы микроскоп Nikon Eclipse (Nikon Corporation, Япония), флуоресцентный микроскоп Nikon Ti (Nikon Corporation, Япония) и сканирующий электронный микроскоп EVO LS10 (Zeiss, Германия).

Площадь клеточного носителя ДХс на микрофотографиях гистологических препаратов КИК определяли с использованием программного обеспечения для анализа изображений ImageJ (National Institutes of Health, USA).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel (2016). Вычисляли показатели описательной статистики: число наблюдений, среднее арифметическое, медиану, стандартное отклонение, межквартильный разброс. Для определения статистической достоверности различий средних между выборками с нормальным распределением (согласно критерию Колмогорова–Смирнова) применяли параметрические методы (t-критерий Стьюдента), в противном случае использовали ранговые методы (U-критерий Манна–Уитни). Различия считали статистически достоверными в том случае, если уровень значимости p не превышал порогового значения 0,05.

Результаты и обсуждение

Разработка технологии изготовления микродисперсного тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща свиньи

Для работы был выбран режим криопомола, включающий 2 цикла 25 Гц по 2 минуты с охлаждением между циклами в течение 1 минуты. Для выделения фракции требуемого размера использовали последовательное пропускание суспензии микрочастиц в дистиллированной воде через сита с размером пор 500, 250 и 100 мкм. Лазерный дифракционный анализ показал, что среднемассовый диаметр частиц хряща не превышал 220 мкм, при этом преобладали частицы с размером 161 ± 11 мкм, что указывает на возможность инъекционного введения матрикса.

В ходе работы был разработан протокол эффективной децеллюляризации фрагментов паренхиматозных органов размером $(2 \times 2 \times 2$ мм), основанный на действии буферного раствора, содержащего SDS и повышающуюся концентрацию Тритона X-100, при перемешивании на магнитной мешалке. Однако применение разработанного для паренхиматозных органов протокола к плотной хрящевой ткани не обеспечило эффективной децеллюляризации – в образце обнаруживались клетки. Применение протокола, разработанного для поджелудочной железы, включающего обработку децеллюляризирующими растворами низкой и высокой ионной силы

(осмотический шок) в сочетании с ПАВ также не обеспечило полноты децеллюляризации, что выражалось присутствием клеток в образце.

Была выдвинута гипотеза, что удаление воды из ДХс вследствие лиофилизации до начала обработки растворами ПАВ может способствовать ускорению и повышению эффективности децеллюляризации за счет снятия диффузных затруднений для проникновения ПАВ в объем матрикса. Предварительная лиофилизация микрочастиц хряща перед обработкой ПАВ привела к освобождению значительного числа микрочастиц от клеток. Однако в микрочастицах, лишенных клеток, визуализировали разволокнение внеклеточного матрикса (ВКМ). Полученный результат стал причиной отказа от включения лиофилизации в протокол децеллюляризации перед обработкой ПАВ.

На рис. 2, А продемонстрированы результаты определения количества децеллюляризованных и недецеллюляризованных микрочастиц ДХс в образцах, полученных при сочетании разного количества циклов замораживания/оттаивания с инкубацией в ПАВ. Как видно из рис. 2, А, количество недецеллюляризованных микрочастиц значительно уменьшалось после использования 2 циклов замораживание/оттаивание в комбинации с ПАВ ($64 \pm 4\%$) по сравнению с отдельным действием ПАВ ($78 \pm 10\%$). Отметим, что минимальное количество частиц, содержащих многочисленные клетки, выявляли при комбинации 10 циклов замораживание/оттаивание с воздействием ПАВ ($8 \pm 2\%$). При этом количество полностью децеллюляризованных микрочастиц возрастало с увеличением циклов замораживание/оттаивание и достигало максимума ($88 \pm 9\%$) к 10 циклам.

Для окончательной децеллюляризации микрочастиц суставного хряща свиньи, полученных с применением комбинированного метода (замораживание/оттаивание и воздействие ПАВ), нами было принято решение использовать обработку частиц раствором ДНКазы, применяемую для удаления остаточных количеств ДНК (Сгаро Р.М., 2011). В образцах, полученных при последовательной обработке хряща растворами ПАВ и раствором ДНКазы, количество децеллюляризованных фрагментов составило $71 \pm 12\%$. В случае использования комбинации замораживание/оттаивание и обработки ПАВ с инкубацией микрочастиц хряща в растворе ДНКазы, уже начиная с применения 3 циклов замораживание/оттаивание, фрагментов, содержащих клетки, в образцах не определяли. Отметим, что уменьшение циклов замораживание/оттаивание приводило к появлению одиночных центров флуоресценции. Основываясь на полученных данных, в качестве оптимального протокола децеллюляризации выбрали сочетание 3 циклов замораживание/оттаивание и последовательной инкубации микрочастиц хрящевой ткани в растворах ПАВ и в растворе ДНКазы.

Количественный анализ показал, что матрикс ДХс был в значительной степени ($p < 0,05$) очищен от ДНК: содержание ДНК снизилось с $366,9 \pm 53,0$ нг/мг ткани до $9,1 \pm 1,1$ нг/мг ткани (рис. 3, А). Заметим, что

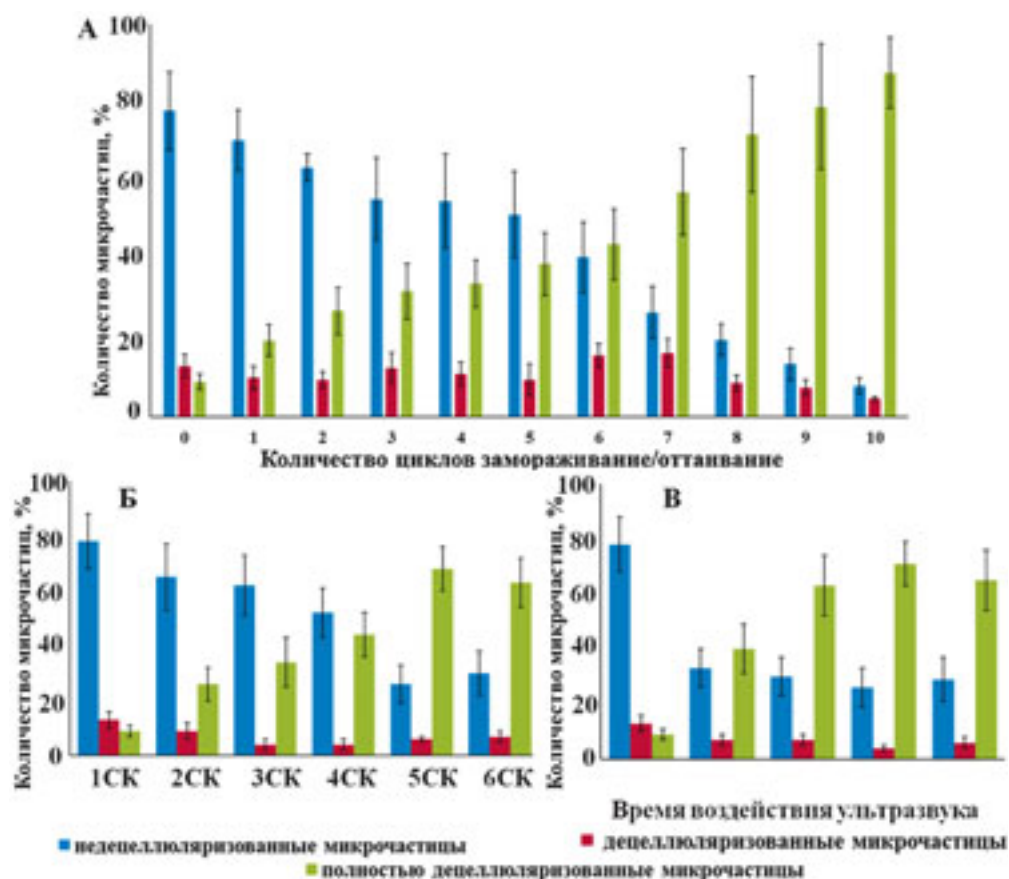


Рис. 2. Влияние режима физических воздействий на полноту децеллюляризации микрочастиц суставного хряща свиньи в комбинации с обработкой растворами поверхностно-активных веществ: А – влияние количества циклов замораживание/оттаивание; Б – влияние режима обработки в среде сверхкритического CO_2 (1СК – без обработки сверхкритическим CO_2 ; 2СК – сверхкритический CO_2 , 150 Бар, 8 часов; 3СК – сверхкритический CO_2 , 300 Бар, 8 часов; 4СК – сверхкритический CO_2 , 300 Бар, 24 часа; 5СК – сверхкритический CO_2 , 300 Бар, 8 часов + 10% этанола; 6СК – сверхкритический CO_2 , 300 Бар, 24 часа + 10% этанола); В – влияние продолжительности обработки ультразвуком

при использовании разработанного протокола децеллюляризации в ткани сохранилось лишь около 2,5% ДНК, что свидетельствует о хорошей децеллюляризации и, соответственно, низкой иммуногенности полученного матрикса (Срапо Р.М., 2011).

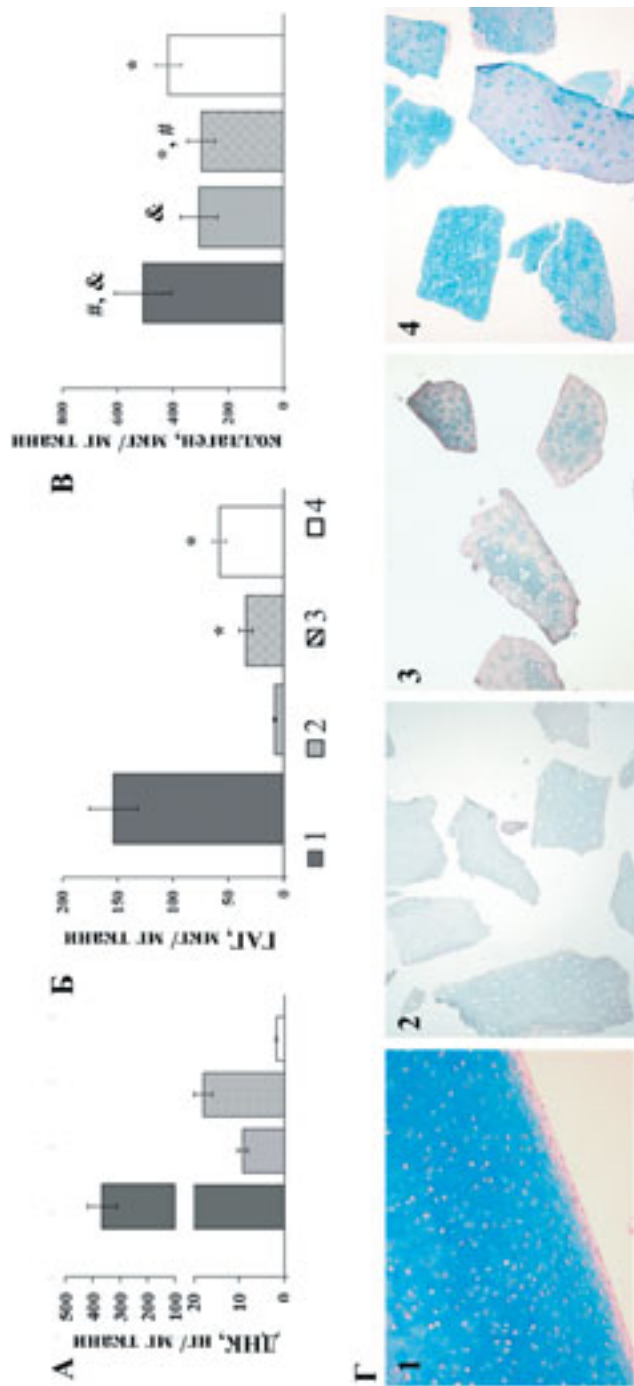


Рис. 3. Содержание ДНК, гликозаминогликанов и коллагена в исходном и децеллюляризованном хряще свиньи: А – содержание ДНК; Б – содержание гликозаминогликанов; В – содержание коллагена;

Г – окрашивание альциановым синим, $\times 100$: 1 – исходный хрящ; 2 – режим децеллюляризации, включающий 3 цикла замораживание/оттаивание, обработку поверхностно-активными веществами при перемешивании на магнитной мешалке и инкубацию в растворе ДНКазы; 3 – режим децеллюляризации, включающий последовательную инкубацию в растворах поверхностно-активных веществ и ДНКазы и последующую обработку в среде сверхкритического CO_2 с введением 10% этанола (давление 300 бар, время обработки 8 часов); 4 – режим децеллюляризации, включающий 30 минут воздействия ультразвуком в сутки при обработке поверхностно-активными веществами и инкубацию

в растворе ДНКазы (*, #, & – $p < 0,05$)

Влияние различных режимов обработки сверхкритическим CO_2 (ск- CO_2) на децеллюляризацию с использованием ПАВ представлены на рис. 2, Б. При обработке ск- CO_2 при давлении 150 Бар в течение 8 часов количество недецеллюляризованных микрочастиц значимо не изменялось, также как и содержание частично децеллюляризованных микрочастиц. При этом количество полностью децеллюляризованных микрочастиц возросло с $9 \pm 2\%$ до $26 \pm 6\%$. Повышение давления до 300 Бар и дальнейшее увеличение продолжительности времени воздействия до 24 часов не привели к существенному изменению результатов. После 24 часов обработки заметные признаки децеллюляризации наблюдали в значительной части фрагментов. Однако даже в последнем случае эффективность децеллюляризации следует признать недостаточной, чтобы рекомендовать комбинацию из обработки ск- CO_2 и ПАВ для получения тканеспецифического матрикса из хрящевой ткани.

Отметим, что диоксид углерода – неполярное соединение, и для повышения эффективности удаления полярных молекул, таких как фосфолипиды клеточных мембран, обработку ткани в среде ск- CO_2 проводят в комбинации с гидрофильным агентом, как правило, этанолом (Ingrosso F., 2017). Введение этанола в состав сверхкритического флюида привело к значительному увеличению количества полностью децеллюляризованных микрочастиц и снижению недецеллюляризованных микрочастиц. При этом существенной разницы при увеличении продолжительности времени воздействия не наблюдали, количество недецеллюляризованных микрочастиц составило $26 \pm 7\%$ и $30 \pm 8\%$, а полностью децеллюляризованных составило $68 \pm 8\%$ и $63 \pm 9\%$ для режимов, включающих 8 часов и 24 часа соответственно (рис. 2, Б).

Для достижения наибольшего удаления клеток и их фрагментов в протокол децеллюляризации была включена стадия инкубации образцов в растворе ДНКазы. Для определения оптимальной комбинации воздействий были опробованы два варианта. Первый включал обработку ДНКазой после инкубации в растворе ПАВ, но до ск- CO_2 , а второй предполагал воздействие ДНКазой на заключительном этапе. В первом случае центров флуоресценции в образцах не наблюдали, во втором случае обработка ДНКазой не оказала влияния на полноту децеллюляризации, количество недецеллюляризованных частиц составило – $25 \pm 4\%$, частично децеллюляризованных – $4 \pm 1\%$, а полностью децеллюляризованных – $71 \pm 11\%$. Можно предположить, что обработка микрочастиц хряща в среде ск- CO_2 с 10% этанола делает ВКМ менее проницаемым для ДНКазы. После выбранного протокола обработки ткань сохраняла только 18 нг ДНК/мг ткани, что составило 4,5% от исходной величины (рис. 3, А).

Альтернативным физическим воздействием, способствующим удалению клеток, является УЗ. Нами была сделана попытка заменить перемешивание на магнитной мешалке на обработку УЗ во время децеллюляризации

в растворах ПАВ. Были опробованы 4 режима: перемешивание в течение 15 минут в сутки, 30 минут в сутки, 45 минут в сутки и 60 минут в сутки. Как видно на рис. 2, Б, количество полностью децеллюляризованных частиц было значимо выше при воздействии УЗ во всех изученных режимах по сравнению с использованием магнитной мешалки, что может указывать на облегчение УЗ проникновения ПАВ в толщу матрикса. При этом эффективность децеллюляризации значимо возрастала при 30 минутах воздействия УЗ по сравнению с 15 минутами ($p < 0,05$). Далее значительного увеличения эффективности децеллюляризации при увеличении времени обработки в УЗ не наблюдали. Однако гистологическое исследование выявило дезагрегацию матрикса, начиная с 45 минут воздействия УЗ. Полученные результаты продемонстрировали, что режим децеллюляризации, включающий 30 минут воздействия УЗ в сутки при обработке ПАВ, обуславливал наибольшую эффективность удаления клеток и их фрагментов при сохранении ВКМ. Отметим, что при добавлении к описанному способу стадии инкубации в растворе ДНКазы все частицы выглядели децеллюляризованными при окраске 4,6-диамиидно-2-фенилиндолом. Остаток ДНК в 1 мг образца составил $1,8 \pm 0,2$ нг, что составляет лишь 0,5% от исходного количества (рис. 3, А).

Для оценки количества ГАГ образцы исследовали с использованием гистологического метода окрашивания альциановым синим (рис. 3, Г). Интенсивность окрашивания снижалась по сравнению с исходной тканью при всех выбранных режимах децеллюляризации. Причем в ДХс, полученном с использованием резких перепадов температуры, окрашивание было отрицательным во всех фрагментах. При обработке ск-СО₂ ГАГ сохранялись в основном лишь в областях около лакун. Интересно, что матрикс, полученный с использованием УЗ, позитивно окрашивался альциановым синим на ГАГ практически во всех микрочастицах, что указывает на лучшее сохранение состава ВКМ по сравнению с остальными разработанными в работе протоколами. Биохимическое исследование полностью подтвердило результаты гистологического анализа (рис. 3, Б). В образцах, обработанных УЗ во время инкубации в растворах ПАВ, наблюдали сохранение ГАГ в значительно большей степени (58 ± 6 мкг/мг ткани), чем в ДХс, полученном при других режимах децеллюляризации (34 ± 6 мкг/мг ткани и 8 ± 1 мкг/мг ткани для режима с использованием ск-СО₂ и режима с использованием резких перепадов температуры соответственно).

При исследовании сохранения фибриллярного коллагена в составе хрящевой ткани после децеллюляризации было показано, что его содержание при использовании обработки УЗ существенно не изменяется по сравнению с исходным суставным хрящом свиньи, тогда как при остальных режимах оно значительно снижается (рис. 3, В).

Полученные результаты указывают на то, что децеллюляризация оказывает большее влияние на содержание в ткани ГАГ, чем коллагена при

всех изученных режимах децеллюляризации. Количество коллагена изменилось на 41%, 40% и 18%, а ГАГ на 95%, 78% и 63% для разных режимов обработки.

Таким образом, протокол децеллюляризации, включающий 30 минут воздействия УЗ в сутки при обработке ПАВ с последующей инкубацией в растворе ДНКазы, обеспечил максимальное сохранение биохимического состава исходной ткани. Благодаря этому полученный тканеспецифический матрикс с высокой долей вероятности должен быть функционально эффективным, то есть способным стимулировать и поддерживать клеточную адгезию, пролиферацию, хондрогенную дифференцировку МСК/хондроцитов и регенерацию поврежденных хрящевых тканей.

Биологические свойства микродисперсного тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща свиньи

Исследование цитотоксичности на клеточной культуре МСК ЖТч не обнаружило проявлений цитотоксического эффекта ДХс на протяжении суток методом вытяжек и прямого контакта. Отрицательного влияния присутствия ДХс на динамику роста МСК ЖТч в течение 7 суток также не выявили. Относительная величина гемолиза составила меньше 2%, что позволяет сделать вывод об отсутствии гемолитической активности у образцов ДХс *in vitro*.

Отсутствие реакции мышечной ткани при имплантации в течение 6 месяцев указывает на соответствие тканеспецифического матрикса на основе ДХс требованиям, предъявляемым к медицинским изделиям по ГОСТ ISO 10993-6-2011 «Исследования местного действия после имплантации». Тестируемые образцы не вызвали изменений в общем состоянии и поведении животных при имплантации, не изменили морфологический и биохимический состав крови, не оказали выраженного действия на структуру и функцию внутренних органов и тканей животных, что свидетельствует о том, что представленные экспериментальные образцы ДХс не проявляют значительного токсического действия на организм животных и соответствуют требованиям, предъявляемым к медицинским изделиям по ГОСТ ISO 10993-11 – 2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 11. Исследования общетоксического действия».

Исследование генотоксичности показало, что образцы ДХс в количестве 0,1; 0,5; 1; 5 и 25 мг/мл не индуцируют генные мутации у штаммов *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98 и TA 97 без системы метаболической активации и в ее присутствии. В процессе эксперимента было установлено, что ДХс, имплантированный в мышечную ткань, как до спаривания животных, так и во время гестации, не нарушает репродуктивной функции, не вызывает эмбриотоксического и тератогенного действия, не нарушает развития потомства в антенатальном и постнатальном периодах развития.

Флуоресцентное окрашивание Live/Dead КИК хряща, включающих хондробласты человека и микрочастицы ДХс, позволило определить значительную массу жизнеспособных клеток на поверхности матрикса. Отметим, что доля мертвых клеток невелика – в образцах видны лишь единичные красные клетки (рис. 4, А).

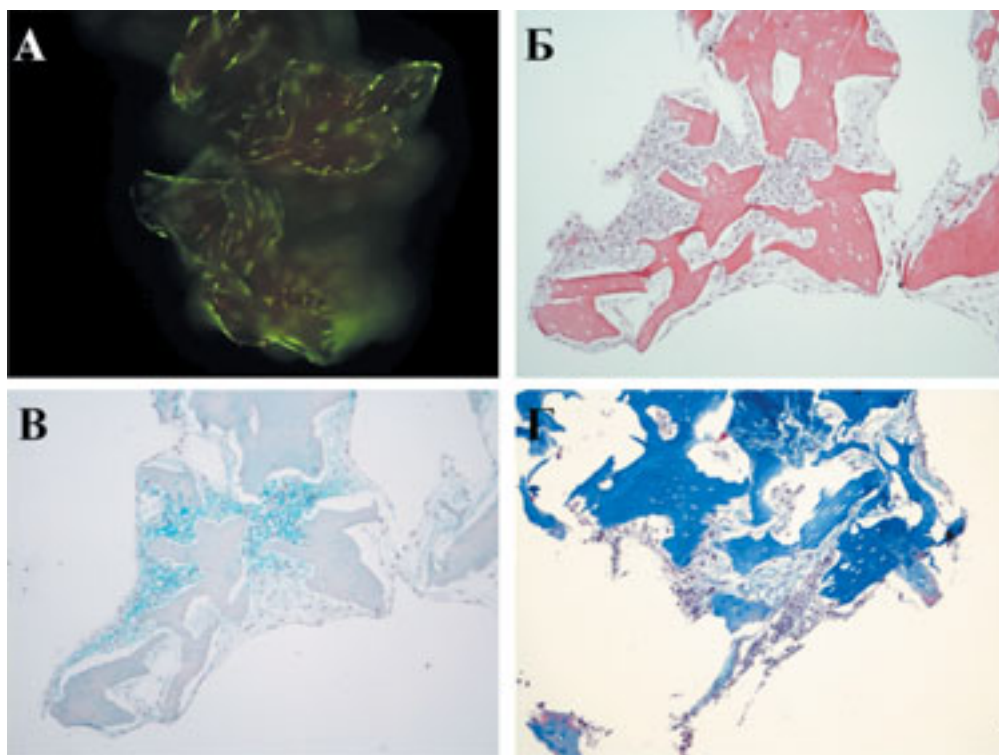


Рис. 4. Культивирование хондробластов человека на микродисперсном тканеспецифическом матриксе: А – окрашивание Live/Dead; Б – окрашивание гематоксилином и эозином; В – окрашивание альциановым синим; Г – окрашивание по Массону, $\times 100$

На 21-е сутки культивирования в хондрогенной среде наблюдали интенсивный рост хондробластов на поверхности микрочастиц ДХс с образованием конгломератов (рис. 4, Б). Клетки визуализировали на всех микрочастицах ДХс. Клетки и наработанный ими ВКМ скрепляли микрочастицы носителя в единую структуру. На 21-е сутки ВКМ интенсивно окрашивался альциановым синим в голубой цвет (рис. 4, В). Причем часть клеток, окруженных ВКМ, имела лакунообразную морфологию, типичную для хондроцитов. В образцах также визуализировали значительную

положительную реакцию на коллаген (рис. 4, Г). Коллагеновые волокна равномерно распределялись в объеме ВКМ.

На предыдущем этапе были разработаны три протокола получения ДХс, обеспечивающие эффективную децеллюляризацию, подтвержденную гистологическими и биохимическими методами исследования. Для определения оптимального режима децеллюляризации оценивали способность матрикса поддерживать хондрогенную дифференцировку МСК ЖТч.

Протокол № 1 включал 30 минут воздействия УЗ в сутки при обработке ПАВ и инкубации в растворе ДНКазы, протокол № 2 представлял собой 3 цикла замораживание/оттаивание, обработку ПАВ при перемешивании на магнитной мешалке и инкубацию в растворе ДНКазы. Протокол № 3 заключался в последовательной инкубации микрочастиц хряща в растворах ПАВ и ДНКазы и последующей обработке в среде ск-СО₂ с введением 10% этанола (давление 300 бар, время обработки 8 часов). Прижизненная флуоресцентная микроскопия показала, что к 21-м суткам культивирования происходило слияние микрочастиц ДХс в единый конгломерат во всех образцах (рис. 5, А–В).

В основной массе окрашенных в зеленый цвет живых клеток определяются мертвые клетки, имеющие красный цвет. КИК с ДХс, полученным с использованием протокола № 1, имела плотную структуру, в которой наблюдали выраженную пролиферацию клеток и наработку ими собственного ВКМ (рис. 5, Г). Клеточные тяжи были равномерно распределены между микрочастицами ДХс. Клеток в состоянии некроза в образце не визуализировали. В исследованных КИК, включающих хрящ, децеллюляризованный по протоколам № 2 и № 3, наблюдали микрочастицы ДХс с компактными клеточными группами, содержащими детрит и пикнотичные ядра, при этом выраженного образования ВКМ клетками не определяли (рис. 5, Д, Е). Клетки обнаруживали лишь на части микрочастиц ДХс. Вероятно, это связано со снижением количества сайтов адгезии на поверхности носителя в результате децеллюляризации.

Окрашивание альциановым синим позволило визуализировать ГАГ в ВКМ, образованном клетками во всех КИК. Отметим, что в образцах, содержащих ДХс, полученный по протоколам № 1 (рис. 5, Ж) и № 2 (рис. 5, З), ВКМ равномерно окрашивается на ГАГ, тогда как в КИК, содержащих ДХс, обработанный в среде ск-СО₂, бирюзово-голубой цвет наблюдали лишь в отдельных участках (рис. 5, И).

В ВКМ, образованном МСК ЖТч в ходе хондрогенной дифференцировки при культивировании на ДХс, полученном по протоколу № 1 (рис. 5, К), были видны равномерно распределенные коллагеновые волокна, тогда как ВКМ в КИК, включающим микрочастицы хряща, децеллюляризованные по протоколам № 2 (рис. 5, Л) и № 3 (рис. 5, М), окрашивался по методу Массона в синий цвет лишь локально. Интересно, что ДХс, полученный по протоколам № 2 и № 3, окрашивался неоднородно – кроме зон, окра-

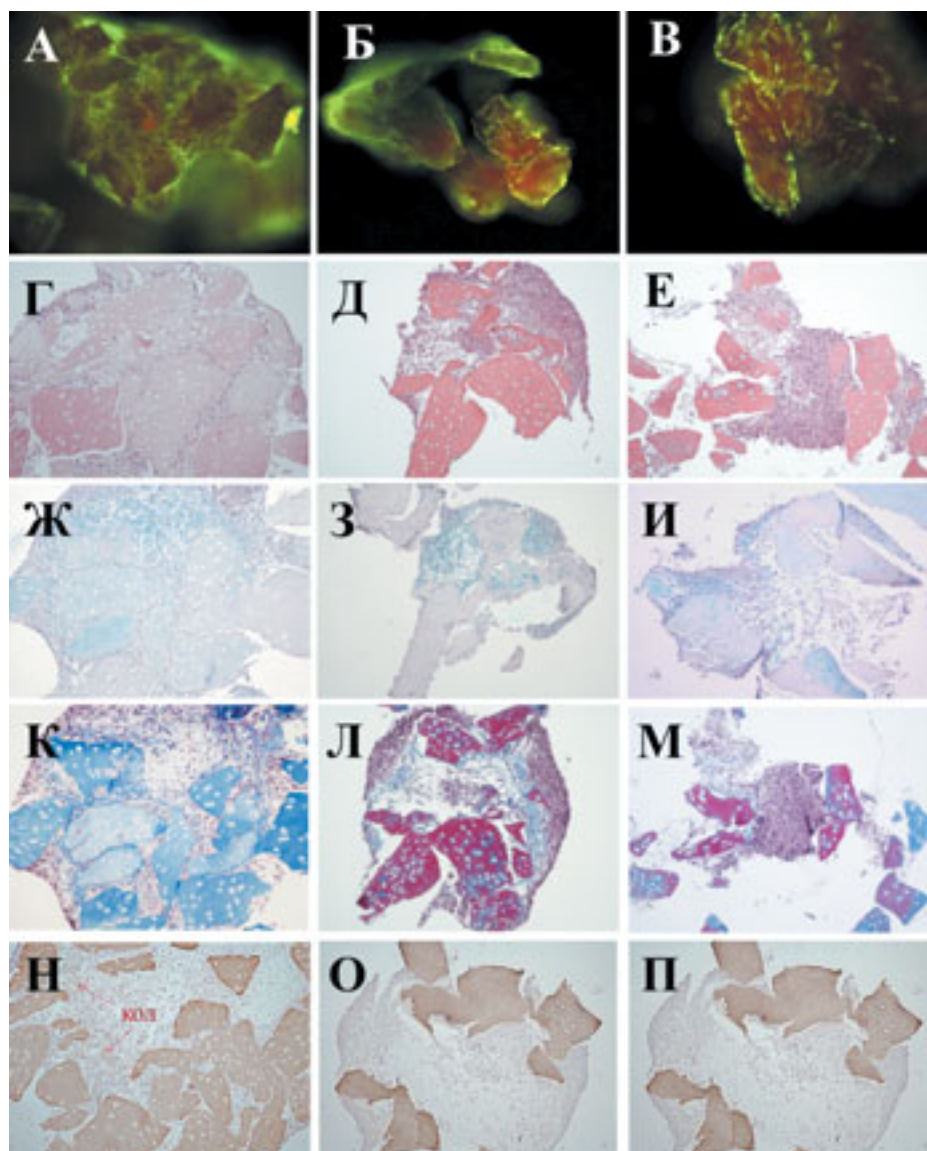


Рис. 5. Культивирование мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека на микродисперсном тканеспецифическом матриксе: А–В – окрашивание Live/Dead; Г–Е – окрашивание гематоксилином и эозином; Ж–И – окрашивание альциановым синим; К–М – окрашивание по Массону; Н–П – окрашивание на коллаген II типа (А, Г, Ж, К, Н – децеллюляризованный хрящ свиньи, полученный по протоколу № 1; Б, Д, З, Л, О – децеллюляризованный хрящ свиньи, полученный по протоколу № 2; В, Е, И, М, П – децеллюляризованный хрящ свиньи, полученный по протоколу № 3), $\times 100$ (*КОЛ – коллаген II типа)

шенных в синий цвет, появились розовые участки, что свидетельствует об изменениях, произошедших в коллагене при децеллюляризации.

Результаты биохимического анализа подтвердили тенденции, выявленные при гистологическом исследовании образцов (рис. 6).

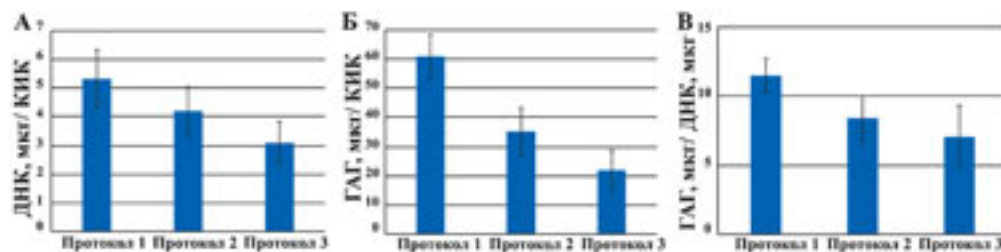


Рис. 6. Содержание ДНК (А), гликозаминогликанов (Б) и активность синтеза гликозаминогликанов (В) в клеточно-инженерных конструкциях хряща, образованных мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани человека и децеллюляризованным хрящом свиньи, на 21-е сутки культивирования в дифференцировочной хондрогенной культуральной среде

Содержимое ДНК в образцах различается, что может быть связано с различной способностью ДХс, полученных по разным протоколам, поддерживать пролиферацию МСК ЖТч. Как видно на рис. 6, А, содержание ДНК в КИК, включающих ДХс, полученный по протоколам № 1 и № 2, существенно не различается, при этом количество ДНК в образце с ДХс, обработанным ск-СО₂, в 1,7 раза ниже, чем в КИК с микрочастицами хряща, децеллюляризованными с использованием УЗ ($p < 0,05$).

Результаты биохимического анализа свидетельствуют о том, что в ходе хондрогенной дифференцировки МСК ЖТч синтезировали меньше ГАГ при культивировании на ДХс, полученном по протоколам № 1 и № 2, чем в КИК с ДХс, обработанном УЗ ($p < 0,05$) (рис. 6, Б). При этом уровень ГАГ в КИК с хрящом, прошедшим децеллюляризацию с использованием резких изменений температуры (34 ± 7 мкг/КИК) и обработки в среде ск-СО₂ (22 ± 5 мкг/КИК), значимо не различаются. Активность синтеза ГАГ клетками в КИК с ДХс, полученным по протоколу 1 ($11,5 \pm 1,2$ ГАГ, мкг/ДНК, мкг), выше, чем в других образцах ($p < 0,05$), уровень наработки ГАГ в которых значимо не отличался между собой. Определение соотношения количества ДНК к наработанным ГАГ позволило установить протокол получения ДХс, позволяющий обеспечить максимальную продукцию ГАГ в расчете на количество клеток. Как видно на рис. 6, В, синтетическая активность клеток в случае использования протокола № 1 значительно выше ($p < 0,05$).

Отметим, что при иммуногистохимическом окрашивании выявили, что все без исключения микрочастицы равномерно окрашиваются на коллаген II типа, основной тип коллагена суставного хряща (>90% от всего коллагена в суставном хряще). Это свидетельствует о том, что все предложенные протоколы децеллюляризации суставного хряща позволяют сохранить основной белковый компонент ткани. Однако окрашивание наработанного МСК ЖТч ВКМ на коллаген II типа в КИК, включающих ДХс, полученный по протоколу 2 и 3, было негативным (рис. 5, Н, О). При этом МСК ЖТч образовывали ВКМ, содержащий коллаген II типа, в КИК, с микрочастицами хряща, децеллюляризованными по протоколу 1, что является основным специфическим признаком способности матрикса поддерживать хондрогенную дифференцировку МСК для создания тканевого эквивалента суставного хряща (рис. 5, П).

Таким образом, согласно проведенным исследованиям *in vitro* и *in vivo*, полученный микродисперсный тканеспецифический клеточный носитель из ДХс является биосовместимым, что указывает на высокое качество как децеллюляризации, так и удаления децеллюляризирующих агентов. Полученные результаты продемонстрировали критичность сохранения состава ВКМ для жизнеспособности и дифференцировки в хондрогенном направлении МСК ЖТч в составе КИК суставного хряща.

Выбор клеточной компоненты клеточно-инженерных конструкций для регенерации хрящевой ткани

Эффективность использования КИК на основе МСК в терапии поврежденной хрящевой ткани связывают со способностями дифференцироваться в хондрогенном направлении и стимулировать репаративную регенерацию за счет паракринного действия.

В связи с этим для определения оптимального источника МСК было проведено сравнение хондрогенного потенциала и способности стимулировать пролиферацию хондробластов *in vitro* для МСК ЖТч, МСК пуповины и МСК пульпы зуба.

Сравнительный анализ хондрогенного потенциала МСК, полученных из различных источников, проводили при культивировании в составе микросфер, включающих 2×10^5 клеток. При окрашивании гематоксилином и эозином микросфер, образованных хондробластами (рис. 7, Г), отчетливо выделяли 2 зоны: плотная периферическая и рыхлая центральная.

На периферии микросфер, полученных из хондробластов, выявили слой, образованный фибробластоподобными клетками. В основном преобладали клетки с лакунообразным строением – молодые хондроциты. Однако в центральной части такой картины нет – фибробластоподобные клетки сформировали рыхлую сеть с низким содержанием ВКМ. В структуре микросфер, образованных МСК ЖТч (рис. 7, А, Д, И), также можно было выделить несколько зон. Поверхностная зона довольно плотная и

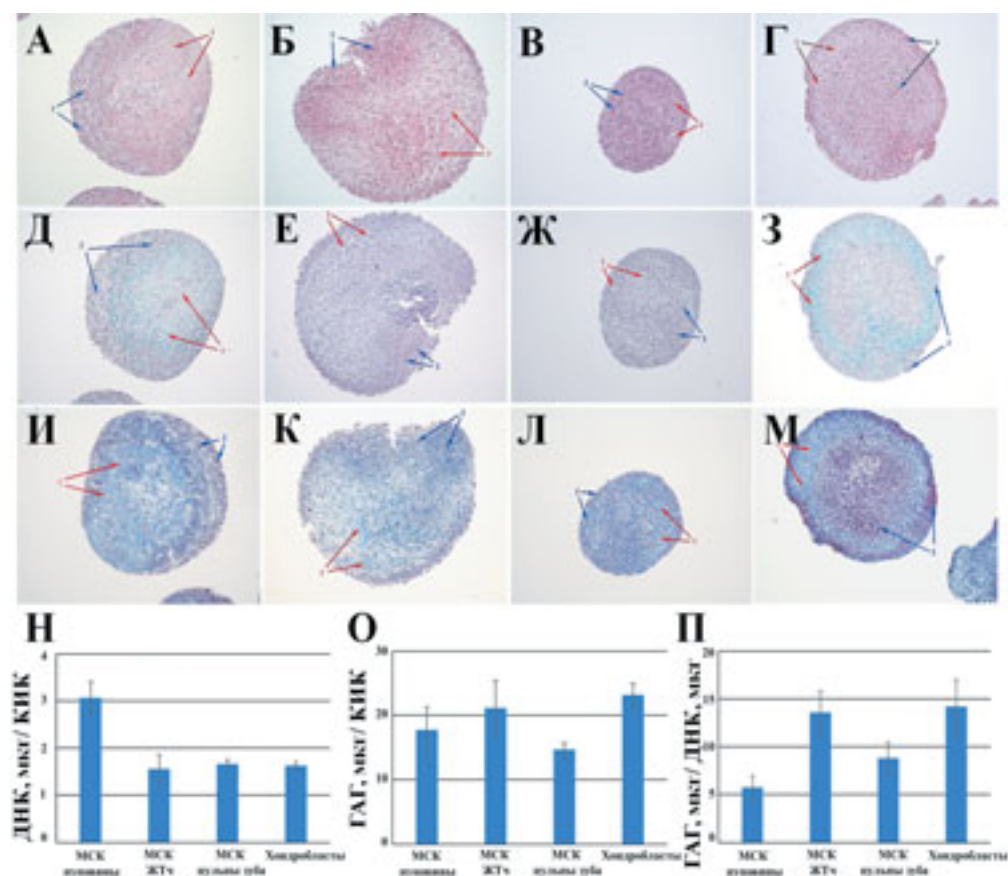


Рис. 7. Хондрогенез в микросферах на 21-е сутки культивирования в дифференцировочной хондрогенной культуральной среде: А, Д, И – мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека; Б, Е, К – мезенхимальные стромальные клетки пуповины человека; В, Ж, Л – мезенхимальные стромальные клетки пульпы зуба человека; Г, З, М – хондробласты человека (А, Б, В, Г – окрашивание гематоксилином и эозином; Д, Е, Ж, З – окрашивание альциановым синим; И, К, Л, М – окрашивание по методу Массона). Красные стрелки – внеклеточный матрикс, синие стрелки – клетки, $\times 100$. Содержание ДНК (Н), гликозаминогликанов (О) и активность синтеза гликозаминогликанов (П)

сформирована гетерогенной клеточной популяцией. Далее располагалась зона, менее богатая клетками и с выраженной наработкой ВКМ. Затем следует сетчатая зона, образованная рыхло лежащими фибробластоподобными клетками. Центральная часть микросфер была более плотная и образована полиморфной клеточной популяцией. В микросферах из МСК пуповины (рис. 7, Б, Е, К) зональность отсутствовала, что выделяло

их среди других образцов. Интересно, что размер пеллет, образованных МСК пульпы зуба (рис. 7, В, Ж, Л), был значительно меньше остальных образцов. Микросферы имели довольно плотную структуру без четкого обособления зон, однако центральная часть выглядит более рыхлой, чем периферическая. К 21-м суткам культивирования в хондрогенной дифференцировочной среде во всех микросферах наблюдали наработку ВКМ, особенно выраженную в случае хондробластов (рис. 7).

Положительное окрашивание всех образцов альциановым синим свидетельствует о наработке ГАГ клетками, вступившими в дифференцировку в хондрогенном направлении (рис. 7, Д, Е, Ж, З). Как видно на рис. 7, З, наибольшая интенсивность окраски визуализировалась в микросферах, образованных хондробластами. Заметим, что среди МСК наиболее интенсивное окрашивание наблюдали в ВКМ микросфер из МСК ЖТч (рис. 7, Д), а наименее выраженное – в микросферах на основе МСК пульпы зуба (рис. 7, Ж).

Содержание коллагена в ВКМ значительно различалось для разных микросфер. При окрашивании на коллаген микросфер, образованных МСК ЖТч, ВКМ дал выраженную положительную окраску (рис. 7, И). Коллагеновые волокна также отчетливо выявлялись на периферии микросфер, образованных хондробластами (рис. 7, М), и в центральной части микросфер, образованных МСК пуповины (рис. 7, К). В случае МСК пульпы зуба окрашивание было умеренно выражено (рис. 7, Л).

На 21-е сутки культивирования в дифференцировочной хондрогенной среде выраженное накопление коллагена II типа визуализировали в микросферах из хондробластов и МСК ЖТч (рис. 8, А, Б). Для микросфер из МСК пуповины и МСК пульпы зуба образование коллагена II типа в аналогичных условиях эксперимента выявлено не было.

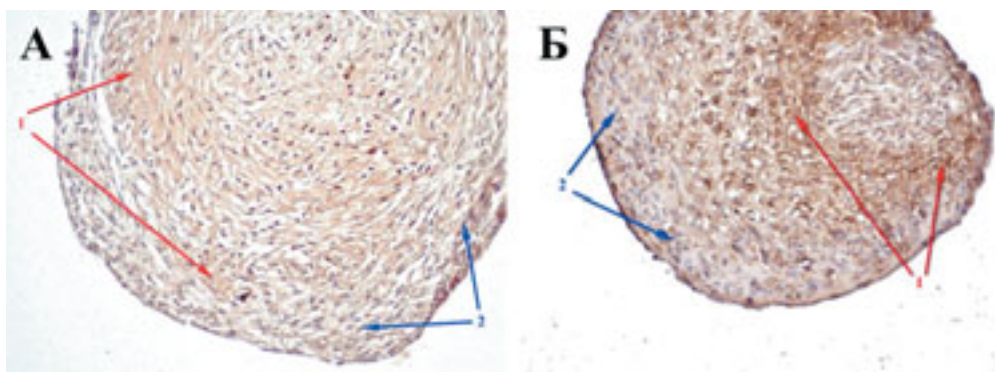


Рис. 8. Окрашивание коллагена II типа: А – микросферы, образованные мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани человека; Б – микросферы, образованные хондробластами человека (красные стрелки –внеклеточный матрикс, синие стрелки– клетки), ×200

Как видно на рис. 7, Н, содержание ДНК в микросферах из МСК ЖТч, МСК пульпы зуба и хондробластов существенно не различается между собой, но в 1,8–2,0 раза ниже количества ДНК в образцах из МСК пуповины ($p < 0,05$). Результаты биохимического анализа также свидетельствуют о том, что в ходе хондрогенной дифференцировки МСК пуповины и МСК пульпы зуба выработали меньше ГАГ, чем хондробласты, но различие статистически значимо только для МСК пульпы зуба ($p < 0,05$) (рис. 7, О). При этом уровень ГАГ в микросферах, образованных МСК ЖТч ($21,16 \pm 4,2$ мкг/микросферу), схож с количеством ГАГ в микросферах из хондробластов ($23,1 \pm 1,8$ мкг/микросферу).

Активность наработки ГАГ клетками в микросферах из МСК ЖТч ($13,6 \pm 2,2$ ГАГ, мкг/ДНК, мкг) и в микросферах из хондробластов ($14,2 \pm 2,8$ ГАГ, мкг/ДНК, мкг) значимо не отличается (рис. 7, П). Самый низкий уровень наработки ГАГ ($5,8 \pm 1,2$ ГАГ, мкг/ДНК, мкг) наблюдали у МСК пуповины ($p < 0,05$), что свидетельствует о высокой пролиферативной активности и низкой дифференцировочной активности.

Разрабатываемые в настоящем исследовании подходы к регенерации и тканевой инженерии суставного хряща подразумевают использование МСК в составе КИК с инъекционной формой коллагенсодержащего клеточного носителя. В связи с этим сравнительное исследование хондрогенного потенциала МСК из различных источников проводили также при культивировании на ДХс (рис. 9).

Положительное окрашивание всех образцов альциановым синим свидетельствует о наработке ГАГ клетками, вступившими в дифференцировку в хондрогенном направлении. Слабое позитивное окрашивание на ГАГ визуализировали только в крупных клеточных скоплениях, образованных МСК пульпы зуба (рис. 9, А).

Наибольшую интенсивность окрашивания альциановым синим ВКМ в голубой цвет определяли в КИК, включающих МСК стромы пуповины и ЖТч (рис. 9, Б, В).

В КИК, содержащих МСК пульпы зуба, визуализировали незначительную положительную реакцию на коллаген, в многослойных участках определяли немногочисленные тонкие синие коллагеновые нити (рис. 9, Г). Интересно, что в образцах, содержащих МСК стромы пуповины, коллаген синтезировался слабо, лишь редкие коллагеновые волокна выявляли в многослойных клеточных скоплениях, тогда как наработка ГАГ шла интенсивнее (рис. 9, Д). К 21-м суткам коллаген наблюдали по всему объему ВКМ в КИК, образованных МСК ЖТч (рис. 9, Е).

Стимуляция пролиферации и ингибирование апоптоза хондроцитов рассматриваются как одна из ключевых стратегий в предотвращении ОА (Jin L., 2014, Yan S., 2016). В связи с этим в настоящем исследовании мы сравнивали способность МСК влиять на рост культуры хондробластов человека *in vitro*.

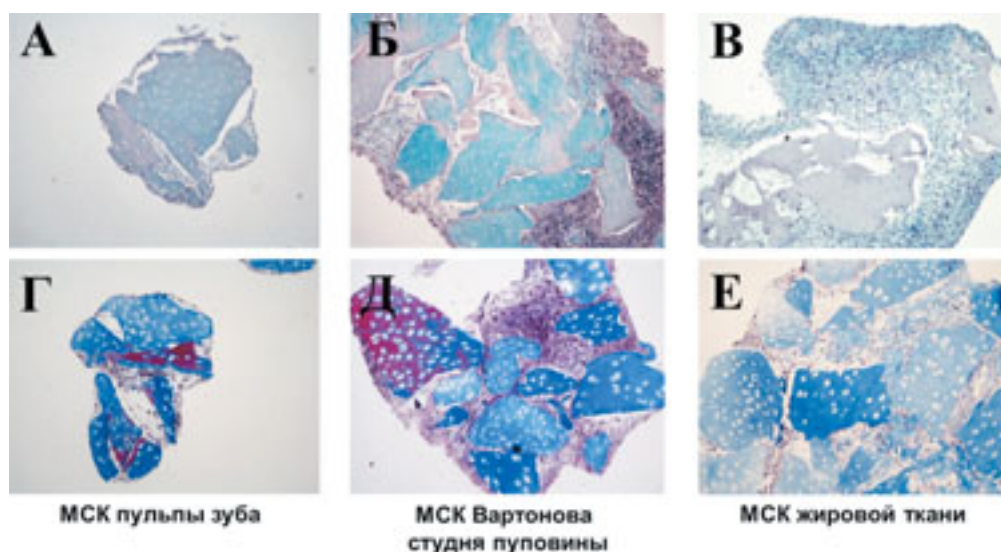


Рис. 9. Гистологическая картина клеточно-инженерных конструкций хряща, включающих децеллюляризованный хрящ свиньи, 21-е сутки культивирования: А, Б, В – окрашивание альциановым синим; Г, Д, Е – окрашивание на коллаген по Массону (А, Г – мезенхимальные стромальные клетки пульпы зуба человека; Б, Д – мезенхимальные стромальные клетки стромы пуповины человека; В, Е – мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека), ×100

К 14-м суткам конфлюэнтность монослоя во всех опытных образцах значимо не различалась и составляла 55 и 57%, что в 1,2 раза превышало площадь поверхности, занимаемой хондробластами без добавки кондиционированной среды от МСК (рис. 10, А). Также значительных различий в содержании ДНК в КИК, включающих ДХч и хондробласты, к 14-м суткам между опытными образцами при непрямом сокультивировании с МСК не выявили, что свидетельствует об одинаковом паракринном действии исследованных МСК в условиях данного эксперимента (рис. 10, Б).

Отметим, что хондрогенный потенциал изученных МСК совпадал при культивировании как в составе микросфер, так и на микрочастицах ДХс, наибольшую наработку ВКМ, включающего ГАГ и коллаген, визуализировали в КИК хряща с МСК ЖТч. При этом стоит отметить положительное влияние ДХс на синтез ГАГ МСК пуповины. Существенных различий в паракринном действии исследованных МСК на пролиферацию хондробластов в условиях данного исследования не выявили. Таким образом, проведенный сравнительный анализ способности МСК ЖТч, МСК пульпы зуба и МСК пуповины вступать в дифференцировку в хондрогенном на-

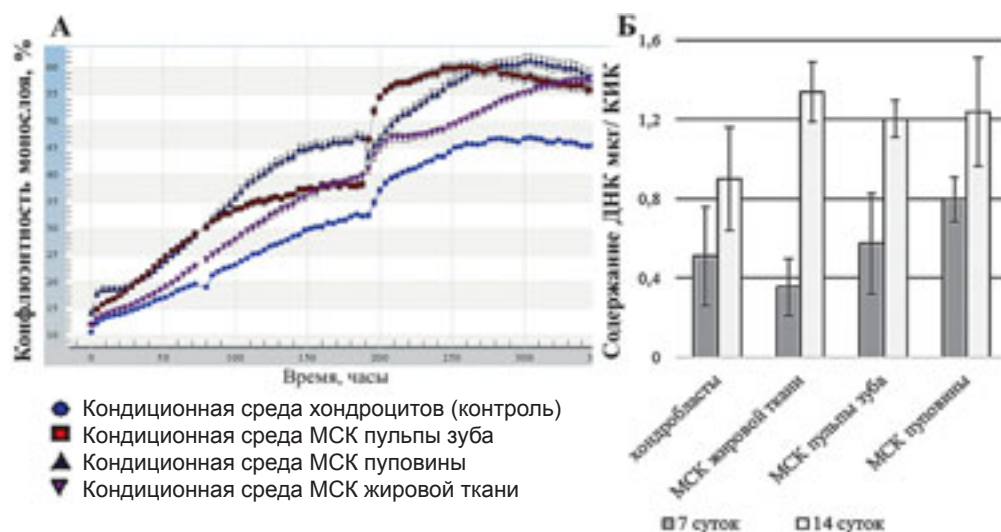


Рис. 10. Способность мезенхимальных стромальных клеток из различных источников стимулировать пролиферацию хондробластов *in vitro*: А – кривые роста хондробластов человека в присутствии кондиционированных сред; Б – пролиферация хондробластов при непрямом сокультивировании в трансвеллах с мезенхимальными стромальными клетками

правлении при культивировании на ДХс и стимулировать пролиферацию хондробластов человека *in vitro* показал преимущество включения МСК ЖТч в КИК при разработке подходов для терапии повреждений хрящевой ткани.

Хондрогенная дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека при культивировании на гидрогелевом и тканеспецифическом матриксах

Для дальнейшего определения конкретной области применения и исследования эффективности биологические свойства ДХс были изучены в сравнении с существующим аналогом – БМКГ, а также с композитным клеточным носителем, представляющим собой смесь ДХс и БМКГ. Для разработки композитного матрикса в настоящем исследовании был проведен анализ влияния вязкости БМКГ на устойчивость к седиментации его смеси с микродисперсным ДХс при физиологических условиях с целью создания наиболее стабильной, но при этом пластичной композиции. Однако низкий уровень адгезии и пролиферации МСК ЖТч на полученном матриксе в сравнении с ДХс стал причиной исключения комбинированного матрикса из запланированного сравнительного исследования.

Из кривых роста видно, что количество клеток на поверхности как БМКГ, так и ДХ увеличивалось в течение 14 дней. При этом пролиферативная активность культуры МСК ЖТч на 14-е сутки при культивировании на ДХ в ростовой среде была выше в 1,3 раза по сравнению с БМКГ (рис. 11, А).

На 28-е сутки культивирования в дифференцировочной культуральной среде КИК представляли собой плотные конгломераты. Отметим, что площадь поверхности, занимаемая КИК с ДХс, превышала площадь КИК с БМКГ при одинаковом исходном количестве, вносимых МСК ЖТч (рис. 11, Б, В).

Анализ морфологии поверхности с использованием СЭМ показал, что структура поверхности образца ДХс гладкая (рис. 11, Г). Визуализируются клеточные лакуны, характерные для ткани суставного хряща. Отсутствие клеток в лакуне свидетельствует о децеллюляризации. Отметим, что поверхность БМКГ выглядит ровной и однородной (рис. 11, Ж). На 28-е сутки культивирования в хондрогенной культуральной среде МСК ЖТч образовывали клеточные пласты как на поверхности ДХс, так и на поверхности БМКГ (рис. 11, Д, З). В части клеток использование лантаноидного контрастирования позволило визуализировать внутриклеточные структуры за счет иммобилизации с накоплением лантаноидов при обменных процессах на уровне Ca^{2+} -каналов различных мембран. Контрастирование позволило выявить ядра и контуры плазматической мембраны в некоторых клетках. Интересно, что цитоплазма клеток включала многочисленные гранулы, по интенсивности окраски напоминающие сам матрикс. Внутриклеточные везикулы могут быть связаны как с секрецией компонентов внеклеточного хрящевого матрикса, так и с резорбцией носителя. Отметим, что, суммируя это с наблюдаемой распластанной формой клеток, можно заключить, что в культивируемых на поверхности тканеспецифического носителя и коллагенсодержащего гидрогеля клетках активно происходили физиологические метаболические процессы.

Адгезию и распластывание жизнеспособных клеток на поверхности носителя наблюдали как в КИК с ДХс (рис. 11, Е), так и в КИК с БМКГ (рис. 11, И). На том же сроке наблюдения (28 суток) количество клеток между образцами значимо не различалось, что было определено при анализе количества ДНК в КИК. Содержание ДНК составило $5,6 \pm 1,2$ мкг/КИК и $4,9 \pm 0,7$ мкг/КИК хряща с ДХс ($n = 3$) и БМКГ ($n = 3$) соответственно.

Гистологические исследования показали, что на поверхности ДХс происходил активный рост фибробластоподобных клеток с формированием многослойных пластов (рис. 12, А, Г). Клетки и наработанный ими ВКМ скрепляли многочисленные микрочастицы ДХс, образуя крупные конгломераты.

В образцах КИК, включающих БМКГ (рис. 12, Ж, К), наблюдали гетерогенную клеточную популяцию, формирующую многослойные участки.

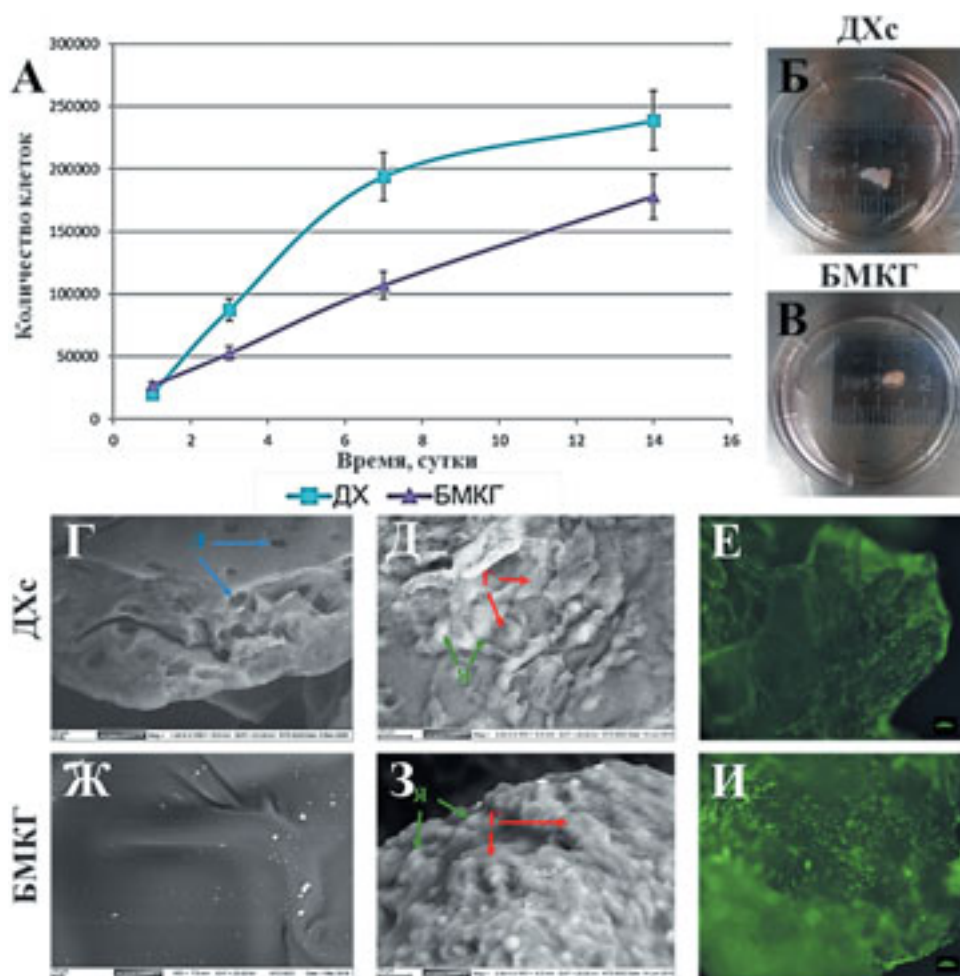


Рис. 11. Матричные свойства децеллюляризованного хряща свиньи и биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля относительно мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека (А – кривая роста; Б, В – вид клеточно-инженерных конструкций хряща на 28-е сутки культивирования в дифференцировочной хондрогенной среде). Сканирующая электронная микроскопия: поверхность децеллюляризованного хряща свиньи (Г), биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля (Ж) и клеточно-инженерных конструкций, включающих децеллюляризованный хрящ свиньи (Д) и биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель (З) в дифференцировочной хондрогенной среде в течение 28 суток (Л – пустые лакуны, Я – ядра, Г – внутриклеточные везикулы). Размер масштабной линейки 10 мкм. Е, И – окрашивание Live/Dead. Размер масштабной линейки 100 мкм

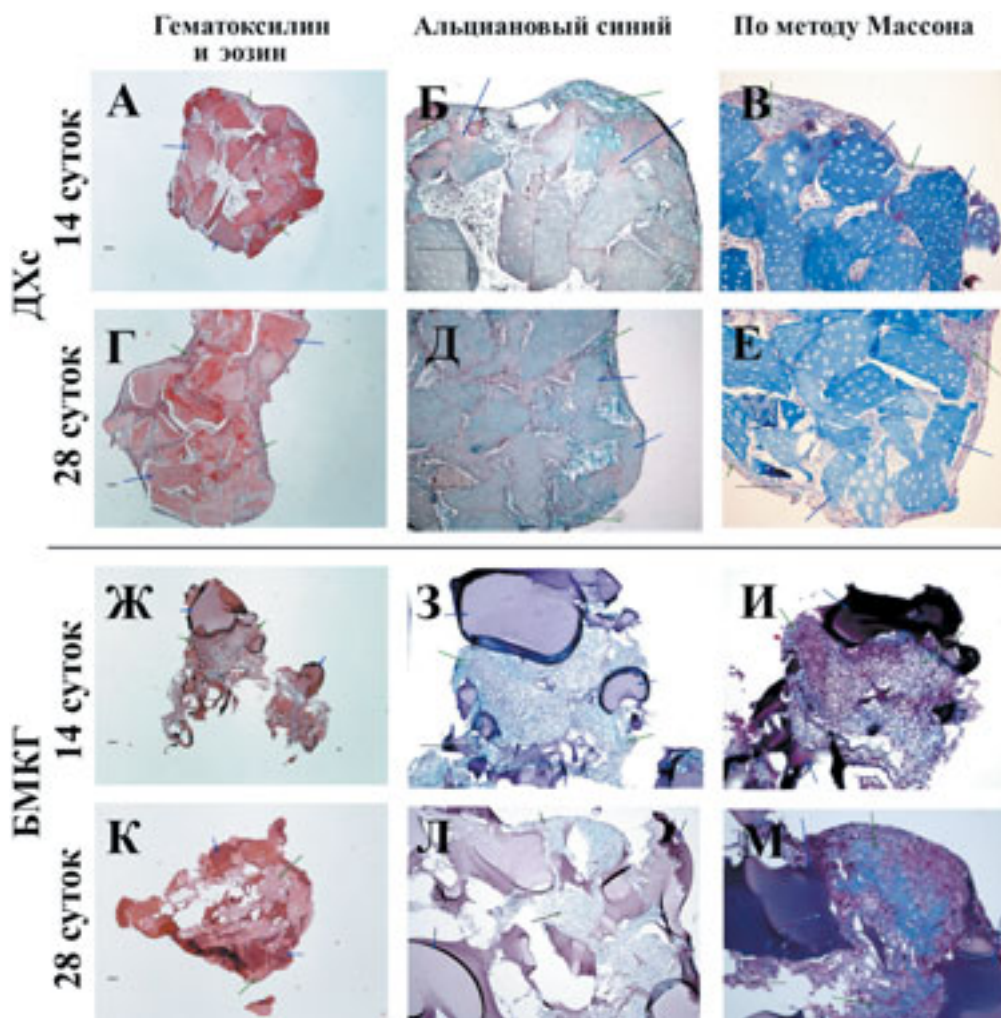


Рис. 12. Гистологическая картина динамики формирования клеточно-инженерных конструкций хряща:

А, Г, Ж, К – окрашивание гематоксилином и эозином; ×40;

Б, Д, З, Л – окрашивание альциановым синим, ×100;

В, Е, И, М – окрашивание по методу Массона, ×100

Клетки прорастали в толщу БМКГ, что сопровождалось его резорбцией. Также визуализировали участки разрушения клеточного пласта.

Отметим, что на поверхности матрикса ДХс клетки распределялись более равномерно, а для БМКГ адгезия и пролиферация клеток наблюдалась только на отдельных участках. Необходимо обратить внимание, что для обоих матриксов объем клеточной массы визуально не различался. Однако на поверхности ДХс клетки с синтезируемым ими ВКМ образуют тонкие

тяжи, что приводит к формированию агрегатов из микродисперсных частиц. На поверхности гидрогелевого матрикса МСК ЖТч распределены по поверхности неравномерно в виде крупных скоплений, что может привести к дефициту питательных веществ в объеме клеточных пластов.

В наработанных клетками ВКМ в КИК, включающих оба типа матриксов, на 14-е сутки культивирования в дифференцировочной среде наблюдали локальное положительное окрашивание на ГАГ и коллаген в многослойных участках (рис. 12, Б, З и рис. 12, В, И). На 28-е сутки равномерное окрашивание ВКМ на ГАГ наблюдали в КИК с ДХс (рис. 12, Д), в отличие от КИК, содержащих БМКГ (рис. 12, Л). Начиная с 28-х суток эксперимента ВКМ в обоих типах КИК выраженно окрашивался на коллаген (рис. 12, Е, М).

Установленная способность полученного по разработанному протоколу ДХс образовывать с МСК ЖТч КИК с равномерным распределением клеток и наработкой специфичного ВКМ, содержащего коллаген и ГАГ, свидетельствует о его потенциале для регенерации поврежденного хряща. Оба исследованных клеточных носителя, БМКГ и тканеспецифический ДХс, проявили способность поддерживать хондрогенную дифференцировку МСК ЖТч. Однако при создании тканевого эквивалента хряща *in vitro* следует учитывать преимущество применения тканеспецифического матрикса по сравнению с БМКГ.

Исследование влияния инъекционного введения клеточно-инженерной конструкции, включающей мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека и коллагенсодержащие биомиметики внеклеточного матрикса, на регенерацию хряща в экспериментальной модели адьювантного артрита *in vivo*

Протокол модели адьювантного артрита состоял из 3 этапов:

- 1) подкожное введение (в основание хвоста) 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда (Thermo scientific) с метилированным бычьим сывороточным альбумином (м-БСА, Sigma) в концентрации 4 мг/мл;
- 2) подкожное введение 0,5 мл полного адьюванта Фрейнда с м-БСА в концентрации 4 мг/мл через 2 недели;
- 3) сопровождаемое скарификацией внутрисуставное введение 0,5 мл м-БСА в концентрации 2 мг/мл в 7,5% растворе глюкозы через 4 недели в оба коленных сустава задних конечностей кролика после первой подкожной инъекции.

Было установлено, что у всех кроликов с моделируемым ОА гематологические показатели перед введением образцов (49-й день эксперимента) были достоверно выше, чем у интактных животных (контроль): скорость оседания эритроцитов до ОА $1,5 \pm 0,3$ мм/час, после ОА $3,0 \pm 0,4$ мм/час,

количество лейкоцитов до ОА $(9,75 \pm 0,5) \times 10^9/\text{л}$, после $(13,25 \pm 0,9) \times 10^9/\text{л}$. Температура в области коленного сустава значимо не изменялась на 50-е сутки как у интактных животных, так и у кроликов с моделью ОА. На рентгеновских снимках было обнаружено неравномерное сужение суставной щели в медиальных областях коленных суставов для кроликов с моделью ОА, что подтверждает начало развития артроза на 50-е сутки после первого введения м-БСА. В конце эксперимента интенсивность воспалительного процесса снизилась, на рентгенограммах визуально не было обнаружено существенной разницы между коленными суставами в обеих группах животных.

Наиболее выраженные морфологические изменения структуры хрящевой ткани для всех животных опытных групп наблюдались для суставного хряща большой берцовой кости. В здоровом суставном хряще интактных животных ($n = 2$) отчетливо были видны поверхностный, средний (промежуточный) и глубокий слои. В поверхностном слое визуализировалась бесклеточная пластина, под которой располагаются вытянутой уплощенной и овальной формы клетки – хондробласты и молодые хондроциты. В среднем слое в эозинофильном тонковолокнистом матриксе хондроциты часто образуют вертикальные колонки-столбики, являющиеся характерной структурой суставного хряща. В глубоком слое, граничащем с субхондриальной костью, выявляются округлой формы хрящевые клетки (рис. 13, А, Б).

У всех животных опытных групп ($n = 15$) в хряще из правого коленного сустава большой берцовой кости обнаруживали морфологические признаки измененной структуры (рис. 13, В, Г). Наблюдались изъязвления и слущивания поверхностной пластины. Деструктуризация более глубоких слоев выражалась в обеднении ВКМ клетками, слабой выраженности камбиального слоя, пустых лакунах, исчезновении колончатого строения, хаотичном расположении хрящевых клеток, отеке и очаговом разволокнении ВКМ. При этом часть хондроцитов выглядели гипертрофированными.

На 60-е сутки после внутрисуставного введения животным опытных групп МСК ЖТч, ДХс или БМКГ наблюдали признаки частичного восстановления хряща. При введении МСК определяли значительное количество клеток в поверхностном слое и образовании колонок-столбиков хондроцитов. Однако оставались частичное повреждение поверхностной пластины, изъязвление поверхностного слоя и незначительное разволокнение ВКМ (рис. 13, Д, Е), присутствующие у животных в контрольной группе. Этот результат можно связать с низкой жизнеспособностью клеток при введении в виде суспензии. После имплантации опытной группе животных ДХс в суставном хряще наблюдали выраженный средний слой, включающий колонки хондроцитов и значительное количество изогенных групп. Однако регенерация поврежденного хряща не была полной, что проявлялось обеднением клетками поверхностного слоя и присутствием

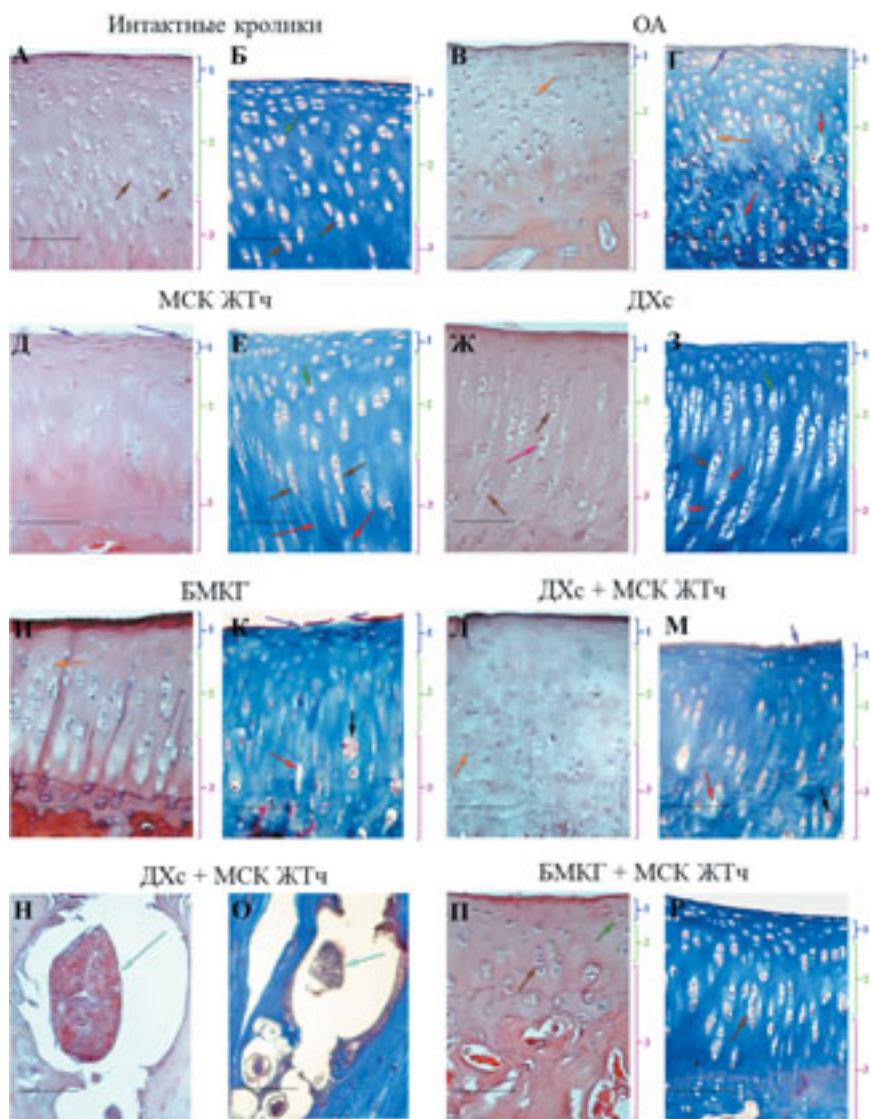


Рис. 13. Гистологическая картина гиалинового хряща большой берцовой кости коленного сустава: 1 – поверхностная зона; 2 – средняя зона; 3 – глубокая (базальная) зона (стрелки: оранжевые – пустые лакуны; красные – разволокнение внеклеточного матрикса; фиолетовые – изъязвления поверхностной пластины; зеленые – изогенные группы; розовые – гипертрофированные хондроциты; черные – кластеры; синие – независимые плотные структуры; коричневые – колонки-столбики хондроцитов). А, В, Д, Ж, И, Л, Н, П – окрашивание гематоксилином и эозином; Б, Г, Е, З, К, М, О, Р – окрашивание по методу Массона, $\times 200$

гипертрофированных хондроцитов (рис. 13, Ж, З). Напротив, для опытной группы животных с введением БМКГ поверхностная пластина суставного хряща была четко выражена, но полное восстановление ее целостности также не было достигнуто. Отметим, что в данных образцах присутствовали кластеры и расслоение ВКМ (рис. 13, И, К).

При введении в коленный сустав МСК ЖТч на носителе ДХс признаки регенерации хрящевой ткани отсутствовали (рис. 13, Л, М). В участках скарификации были обнаружены самостоятельные плотные образования, не связанные с суставным хрящом, в составе которых определяли живые и погибшие клетки, ВКМ и оболочку, отделяющую их от окружающей среды (рис. 13, Н, О). Наличие собственной оболочки, ограничивающей образования от окружающей среды и затрудняющей массоперенос, указывает на ориентацию клеток на секрецию факторов внутрь конгломерата, а не в суставную полость для стимуляции регенерации хряща.

После введения МСК на носителе БМКГ наблюдали признаки регенерации хрящевой ткани (рис. 13, П, Р): увеличение количества хондробластов и молодых хондроцитов в поверхностном слое относительно контрольной группы. В среднем слое хондроциты выстраивались в колонки-столбики. В глубоком слое наблюдали появление изогенных групп.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования *in vivo* продемонстрировали стимулирующее влияние МСК ЖТч при внутрисуставном введении с БМКГ на физиологическую регенерацию поврежденного суставного хряща.

Создание тканевого эквивалента хряща в перфузионном биореакторе

Показано, что для создания функционально активных КИК при культивировании *in vitro* необходимо обеспечить как можно более близкую имитацию комплекса биохимических и механических воздействий естественного микроокружения, обеспечивающего жизнедеятельность клеток в организме (Pennarossa G., 2021; Ahmed S., 2019). Для воспроизведения физических стимулов *in vitro* используют биореакторы, среди которых для создания КИК хряща чаще других применяют замкнутые перфузионные системы. К преимуществам данной конструкции относят обеспечение стерильности при непрерывном поступлении к клеткам питательных веществ и газов и выведение от них продуктов метаболизма (Басок Ю.Б., 2016). Кроме того, перфузия обеспечивает силу сдвига и гидростатическое давление, имитируя движения синовиальной жидкости в суставе.

В связи с этим для повышения качества культивируемых КИК хряща мы использовали перфузионный биореактор оригинальной конструкции. В процессе его разработки одним из ключевых аспектов был выбор пористой подложки для КИК в культуральной камере. Для выбора оптимального материала были проанализированы цитотоксичность и способность мемб-

ран поддерживать клеточную адгезию и пролиферацию. На основании полученных данных в качестве материала подложки для КИК нами были выбран нейлон, проявляющий биологическую инертность, так как мембраны из поликарбоната, обладающие матричными свойствами, могли бы повлиять на развитие КИК. Учитывая, что мембрана с размером пор 5 мкм создавала большее давление, чем мембрана с размером пор 10 мкм, в 5,4, 6,5 и 7,9 раза при скоростях потока 0,3 мл/мин, 0,5 мл/мин и 1,0 мл/мин соответственно, в дальнейших экспериментах мы использовали подложку с размером пор 10 мкм. В испытаниях предлагаемого перфузионного биореактора, включающего 4 культуральные камеры, заполненного модельным раствором, была подтверждена его способность обеспечивать оксигенацию среды и контроль давления, а также содержания кислорода и углекислого газа и pH культуральной среды.

Функциональную эффективность разработанного биореактора оценивали на примере культивирования КИК, включающих различные типы клеточных носителей: мелкодисперсный тканеспецифический (тканеспецифический матрикс из децеллюляризованной печени человека с 1×10^5 клеток гепатоцеллюлярной карциномы HepG2, срок культивирования 11 суток, скорость потока 0,02 мл/мин), гидрогель (БМКГ с $7,5 \times 10^5$ гепатоцитов человека и $1,5 \times 10^5$ МСК ЖТч, срок культивирования 7 суток, скорость потока 0,02 мл/мин) и губки (губки из полилактида с $2,9 \times 10^6$ МСК ЖТч, срок культивирования 14 суток, скорость потока 0,2 мл/мин). Полученные результаты позволили прийти к заключению, что разработанная конструкция биореактора соответствует предъявляемым требованиям: способна обеспечивать герметизацию, предотвращая протечки и контаминацию, совместима с различными клеточными носителями – губками, гидрогелями и мелкодисперсными частицами – и позволяет отбирать пробы культуральной среды и исследовать динамику развития КИК за счет возможности изъятия культуральных камер по одной в разное время.

Для выбора оптимальной скорости потока было проведено сравнительное исследование КИК хряща, полученных на основе МСК ЖТч и БМКГ, в разработанном перфузионном биореакторе при скоростях подачи культуральной среды к культуральной камере 0,5 мл/мин, 1,0 мл/мин и 2,0 мл/мин.

Через 14 суток культивирования МСК ЖТч в дифференцировочной хондрогенной среде при скорости потока 2 мл/мин в образцах выявляли многочисленные фрагменты БМКГ, поверхность которых была практически пуста. Было обнаружено, что значительная часть МСК ЖТч претерпевает дегенеративные изменения, характеризующиеся нарушением целостности плазматической мембраны, фрагментацией цитоплазмы и клеточных ядер. Однако небольшая часть фибробластоподобных клеток остается жизнеспособной и образует участки монослоя по периферии матрикса. При окрашивании гематоксилином и эозином образцов КИК,

культивированных при скорости потока 1 мл/мин, наблюдали значительное распространение клеток по поверхности БМКГ. Группы клеток были на всех фрагментах гидрогеля, при этом прорастания клеток внутрь БМКГ и наработку ВКМ не наблюдали. Отметим, что при культивировании МСК ЖТч при скорости потока 0,5 мл/мин наблюдали прогрессивное нарастание клеточной массы. Клетки образовывали многослойные группы со значительным образованием ВКМ. Полученные результаты позволили определить оптимальную скорость потока для культивирования КИК хряща в разработанном биореакторе – 0,5 мл/мин.

Далее мы исследовали динамику развития КИК хряща, включающей 2×10^6 МСК ЖТч и 1 мл БМКГ, при продолжительном культивировании в биореакторе в дифференцировочной хондрогенной среде при скорости потока 0,5 мл/мин. На 25-е сутки исследования наблюдали значительное увеличение клеточной массы с прогрессирующим увеличением доли ВКМ, что доказывало не только пролиферативную, но и высокую функциональную клеточную активность (рис. 14, А). Интересно, что клетки располагались не только на поверхности, но и прорастали вглубь матрикса, который стал напоминать «кружево». В образце наблюдали спонтанное образование структур, схожих с микросферами. К 25-му дню культивирования при окрашивании витальным красителем Live/Dead была показана активная пролиферация клеток, при этом мертвые клетки, окрашенные в красный цвет, не визуализировались, что свидетельствует о высокой эффективности биореактора, который обеспечивает удаление детрита (рис. 14, Б).

Полученные результаты показали, что на 21-е сутки культивирования в хондрогенной культуральной среде в разработанном биореакторе МСК ЖТч проявили высокую пролиферативную активность, приобрели характерную для хондроцитов морфологию и синтезировали собственный ВКМ, содержащий коллаген и ГАГ (рис. 14, В, Г), что свидетельствует о формировании эквивалента хрящевой ткани. Кроме того, настоящее исследование явилось валидацией разработанного биореактора и продемонстрировало возможность его использования в долговременных экспериментах (до 25 суток) по «выращиванию» 4 КИК в одинаковых условиях с возможностью их изъятия по отдельности в разное время.

На следующем этапе мы исследовали возможность формирования в биореакторе КИК хряща, включающих МСК ЖТч и микрочастицы ДХс. На 14-е сутки культивирования во всех образцах наблюдали образование крупных конгломератов, представляющих собой микрочастицы матрикса, соединенные клетками и наработанным ими ВКМ. В образцах визуализировался рост фибробластоподобных клеток на поверхности ДХс, причем соотношение клеток и клеточного носителя в КИК при культивировании в биореакторе (рис. 15, Б, Г, Е) выше, чем в статических условиях (рис. 15, А, В, Д).

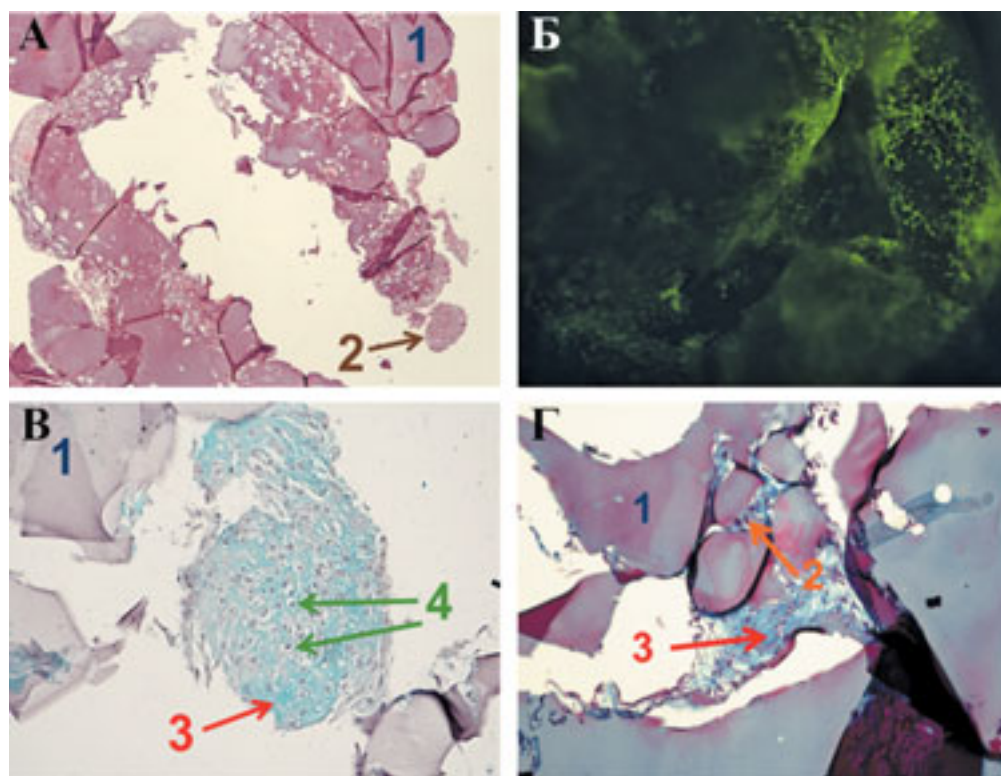


Рис. 14. Хондрогенная дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека при культивировании на биополимерном микрогетерогенном коллагенсодержащем гидрогеле в перфузионном биореакторе (1 – биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель; 2 – клетки; 3 – внеклеточный матрикс; 4 – хондроциты (клетки с лакунообразной структурой):
А – окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 40$;
Б – окрашивание Live/Dead, $\times 40$; В – окрашивание альциановым синим, $\times 100$; Г – окрашивание по Массону, $\times 100$

Отметим, что количество клеток на единицу площади скаффолда для образца, полученного в биореакторе, в 7 раз выше по сравнению с образцом, культивированным в статических условиях ($0,003 \pm 0,001$ клеток/мкм² и $0,020 \pm 0,004$ клеток/мкм² для образцов, полученных в статических условиях и перфузионном биореакторе соответственно). Во всех изученных образцах на фоне клеточной пролиферации наблюдали образование ВКМ. ВКМ равномерно положительно окрашивался альциановым синим на ГАГ (рис. 15, В, Г). При этом в ВКМ определя-

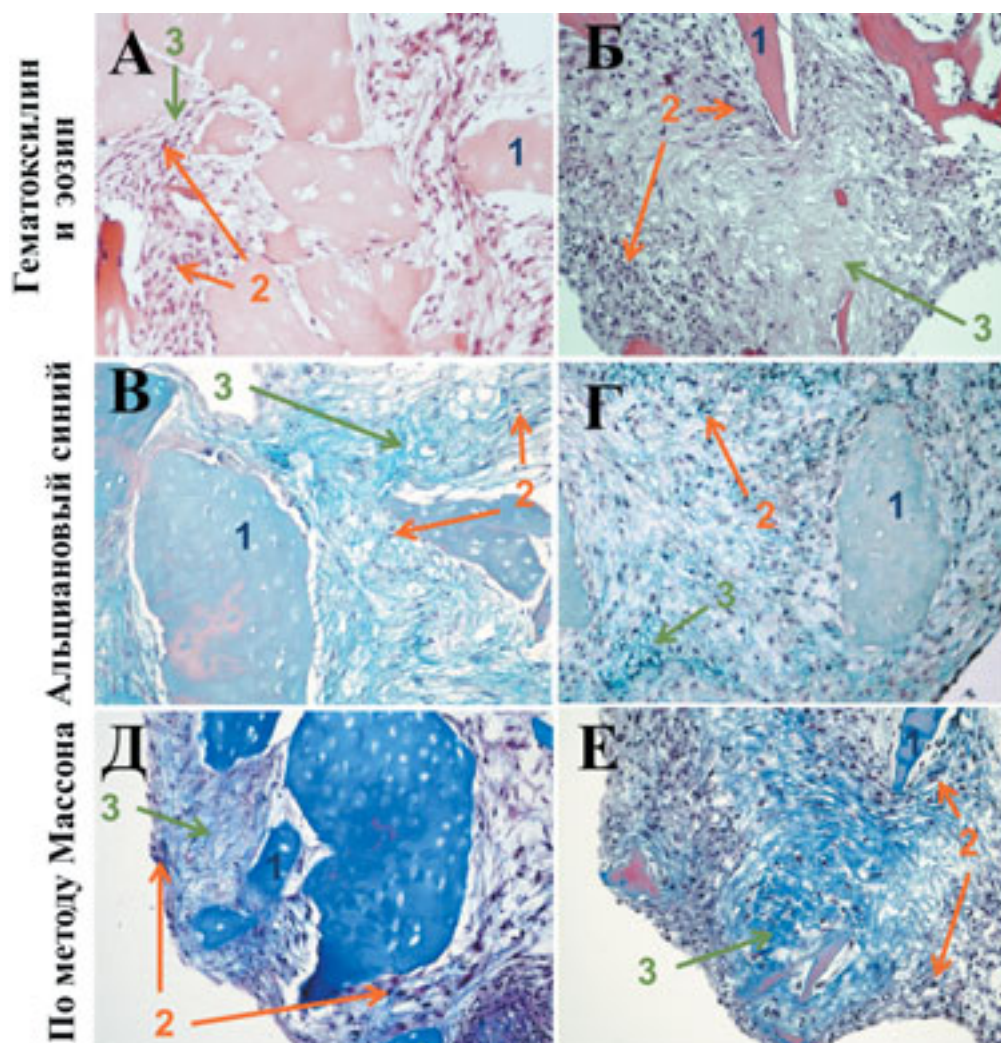


Рис. 15. Хондрогенная дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека при культивировании на децеллюляризованном хряще свиньи при культивировании в статических условиях (А, В, Д) и в перфузионном биореакторе (Б, Г, Е): А, Б – окрашивание гематоксилином и эозином, В, Г – окрашивание альциановым синим, Д, Е – окрашивание по Массону (1 – децеллюляризованный хрящ, 2 – клетки, 3 – внеклеточный матрикс), ×200

ли синие коллагеновые волокна (рис. 15, Д, Е). Полученные результаты свидетельствуют о дифференцировке МСК ЖТч в хондрогенном направлении.

Заключение

В исследовании были разработаны три подхода для получения децеллюляризованного носителя из суставного хряща свиньи. Технологии не отличались режимом обработки в растворах поверхностно-активных веществ и ДНКазы, но включали разные физические воздействия: 30 минут воздействия ультразвука, или 3 цикла замораживание/оттаивание, или обработку в среде сверхкритического CO_2 с введением 10% этанола (давление 300 бар, время обработки 8 часов). Отметим, что использование ультразвука позволило минимизировать последствия децеллюляризации, что проявилось в сохранении большего количества гликозаминогликанов (37%) и фибриллярного коллагена (82%) в носителе, чем при обработке в среде сверхкритического CO_2 (22% гликозаминогликанов и 60% фибриллярного коллагена) и применении резких изменений температуры (5% гликозаминогликанов и 59% фибриллярного коллагена). Сохранение состава внеклеточного матрикса повысило способность клеточного носителя поддерживать высокий уровень пролиферации и хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека, проявляющуюся в выраженной наработке гликозаминогликанов и коллагена II типа. Полученный микродисперсный тканеспецифический клеточный носитель из децеллюляризованного хряща проявил себя безопасным и биосовместимым согласно проведенным исследованиям *in vitro* и *in vivo*, что указывает на высокое качество как децеллюляризации, так и удаления децеллюляризирующих агентов. При ксеногенной имплантации децеллюляризованного хряща крысам удаление из ткани антигенов, вызывающих реакцию отторжения, было подтверждено отсутствием местной реакции.

Полученные результаты морфологических и биохимических исследований коррелируют между собой и указывают на то, что среди изученных типов мезенхимальных стромальных клеток при культивировании в составе микросфер и клеточно-инженерных конструкций с децеллюляризованным хрящом клетки из жировой ткани человека обладают большим хондрогенным потенциалом, чем клетки из пуповины и пульпы зуба. Различий в паракринном действии исследованных клеток в условиях данного эксперимента выявлено не было.

Ожидаемый эффект разрабатываемых клеточно-инженерных конструкций может быть обусловлен непосредственным замещением дефекта и/или активацией регенеративного потенциала реципиента. В связи с этим сравнительное исследование клеточно-инженерных конструкций, содержащих мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека и децеллюляризованный хрящ или биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель, включало анализ качества полученных *in vitro* тканевых эквивалентов и оценку восстановления суставных дефек-

тов у кроликов с экспериментальным остеоартрозом при внутрисуставном введении. Показано преимущество микрочастиц децеллюляризованного хряща перед гидрогелем при формировании тканевых эквивалентов хряща с мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани человека. Через 2 месяца после введения в поврежденный сустав клеточно-инженерной конструкции, включающей децеллюляризованный хрящ и мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека, признаков регенерации в хрящевой ткани не наблюдали. В гистологических препаратах коленного сустава кролика после введения клеточно-инженерной конструкции, включающей биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель и мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека, обнаружили признаки регенерации хрящевой ткани, более выраженные, чем при введении клеточных носителей или клеток по отдельности. Можно предположить, что в основе различий функциональной активности исследованных матриксов лежит зависимость поведения клеток от механических свойств носителя. Также настоящее исследование продемонстрировало возможность регуляции регенераторного действия мезенхимальных стромальных клеток в области поврежденного хряща: микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель в большей степени способствует стимуляции мезенхимальными стромальными клетками регенерации хряща, тогда как децеллюляризованный хрящ является индуктором для создания тканевого эквивалента хряща.

Разработанный биореактор позволил длительно (до 25 суток) культивировать одновременно 4 клеточно-инженерные конструкции, включающие клеточные носители различной природы в виде гидрогелей, губок и мелкодисперсных частиц, в условиях потока при сохранении стерильности, мониторинге pH, содержания газов и основных метаболитов в культуральной среде. Установлено, что культивирование мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани на микрочастицах децеллюляризованного хряща в выбранном режиме позволяет повысить пролиферативную активность клеток при формировании тканевого эквивалента по сравнению со статическими условиями 3D-культивирования при сохранении способности синтезировать характерный для хрящевой ткани внеклеточный матрикс.

Выводы

1. Установлено, что при разработке протокола децеллюляризации следует учитывать структуру исходной ткани. Показано, что в отличие от паренхиматозных органов для удаления клеток и их компонентов из плотной хрящевой ткани необходимо, кроме химического способа обработки, дополнительно использовать другие методы, такие как

- ультразвук, сверхкритический CO₂ и резкие изменения температуры в сочетании с инкубацией в растворе ДНКазы.
2. Показано, что протоколы децеллюляризации микронизированных фрагментов суставного хряща свиньи, отличающихся только способами дополнительного физического воздействия (ультразвук, резкий перепад температуры, обработка в среде сверхкритического CO₂) обеспечивают полное удаление клеток и снижение содержания ДНК до уровня менее 50 нг/мг ткани, но различаются влиянием на основной состав внеклеточного матрикса хряща.
 3. Децеллюляризация микронизированных фрагментов суставного хряща свиньи путем обработки растворами поверхностно-активных веществ при воздействии ультразвуком и с последующей инкубацией в растворе ДНКазы позволила достичь в образцах тканеспецифического микродисперсного матрикса снижения количества ДНК до уровня 0,5% с наибольшей сохранностью гликозаминогликанов (37%) и коллагена (82%).
 4. В экспериментах *in vitro* (цитотоксичность, гемолитическая активность, генотоксичность) и *in vivo* (местное и общетоксическое действие при имплантации, репродуктивная токсичность) доказана биосовместимость тканеспецифического микродисперсного матрикса из децеллюляризованных микронизированных фрагментов суставного хряща свиньи.
 5. Экспериментально обосновано, что жировая ткань человека является оптимальным источником мезенхимальных стромальных клеток при создании клеточно-инженерных конструкций для регенерации и тканевой инженерии суставного хряща с точки зрения их жизнеспособности, доступности, хондрогенного потенциала и секреторного влияния на пролиферативную активность первичных хондробластов человека.
 6. Установлено, что тканеспецифический микродисперсный матрикс из децеллюляризованных микронизированных фрагментов суставного хряща свиньи поддерживает жизнеспособность, адгезию и пролиферацию мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани и хондробластов человека, а также синтез ими внеклеточного матрикса хрящевой ткани.
 7. Доказано положительное влияние уровня гликозаминогликанов и коллагена в децеллюляризованных микронизированных фрагментах суставного хряща на жизнеспособность мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека, в том числе на синтез гликозаминогликанов и коллагена II типа в процессе хондрогенной дифференцировки клеток.
 8. Показано преимущество тканеспецифического матрикса перед биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем

при формировании клеточно-инженерных конструкций хряща в статических условиях. Митохондриальная активность мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека была выше при культивировании на тканеспецифическом матриксе на 10-е и 14-е сутки в 1,7 и 1,3 раза соответственно по сравнению с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем. На 28-е сутки культивирования в присутствии TGF- β 1 во внеклеточном матриксе клеточно-инженерных конструкций на основе тканеспецифического матрикса присутствовал коллаген II типа.

9. На экспериментальной модели остеоартроза проведен сравнительный анализ функциональной эффективности клеточно-инженерной конструкции с биополимерным и тканеспецифическим матриксами. Показано стимулирующее действие внутрисуставного введения клеточно-инженерной конструкции, состоящей из биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля и мезенхимальных стромальных клеток человека на внутренний регенеративный потенциал поврежденной хрящевой ткани.
10. Разработан малогабаритный перфузионный биореактор, позволяющий длительно (до 25 суток) при сохранении стерильности культивировать клетки на матриксах различной формы и природы (гидрогели, губки, мелко- и микродисперсные частицы) в условиях контролируемого потока, мониторинга pH, содержания газов и основных метаболитов в культуральной среде.
11. Показано, что культивирование в перфузионном биореакторе мезенхимальных стромальных клеток на микрочастицах децеллюляризованного хряща в большей степени способствует пролиферативной активности клеток при формировании тканевого биоэквивалента хряща по сравнению со статическими условиями.

Практические рекомендации

1. В процессе разработки технологии децеллюляризации тканей необходимо учитывать особенности ее морфологии для обеспечения эффективного удаления клеточного материала и минимизации повреждающего действия децеллюляризирующих агентов на структуру и состав сохранившегося внеклеточного матрикса.
2. Для достижения оптимальной комбинации морфологических, биохимических, биосовместимых и функциональных свойств микродисперсного тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща свиньи для дальнейшего создания на его основе тканевого эквивалента хряща следует использовать технологию, включающую обработку поверхностно-активными веществами при

воздействии ультразвуком с последующей инкубацией в растворе ДНКазы.

3. Для скрининга полноты децеллюляризации микрочастиц суставного хряща свиньи целесообразно использовать специфический флуоресцентный краситель для двуцепочечной ДНК 4',6-диамиидно-2-фенилиндолом без дополнительной пробоподготовки, что обусловлено размером клеточного носителя и прозрачностью гиалиновой хрящевой ткани.
4. Необходимо учитывать степень сохранения гликозаминогликанов и коллагена в хрящевой ткани при децеллюляризации для улучшения функциональных свойств тканеспецифического матрикса.
5. При создании клеточно-инженерной конструкции в виде конгломерата, представляющего собой микродисперсные частицы тканеспецифического матрикса от 100 до 200 мкм, соединенные клетками и наработанным ими внеклеточным матриксом, рекомендуется использовать перемешивание в реципрокном режиме на орбитальном шейкере продолжительностью 60 минут при скорости 80 оборотов/минуту.
6. Клеточно-инженерную конструкцию, включающую биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель и мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека, целесообразно использовать для стимуляции регенерации поврежденного хряща при остеоартрозе.
7. Создание тканевых эквивалентов хряща *in vitro* рекомендуется проводить в перфузионном биореакторе на основе микродисперсного тканеспецифического матрикса и мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани человека.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Басок Ю.Б. Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины в лечении дефектов хрящевой ткани суставов / Ю.Б. Басок, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. 18 – № 4. – С. 102–122.
2. Севастьянов В.И. Применение технологии тканевой инженерии для формирования хрящевой ткани человека в проточном биореакторе / В.И. Севастьянов, Ю.Б. Басок, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, В.Н. Василец // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19 – № 3. – С. 81–92.
3. Севастьянов В.И. Перфузионный биореактор для создания тканеинженерных конструкций / В.И. Севастьянов, Ю.Б. Басок, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, В.Н. Василец // Медицинская техника – 2017. – № 3. – С. 9–11.
4. Севастьянов В.И. Формирование тканеинженерной конструкции хрящевой ткани человека в проточном биореакторе / В.И. Севастьянов, Ю.Б. Басок,

- A.M. Григорьев, Л.А. Кирсанова, В.Н. Василец // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2017. – № 3. – С. 178–183.
5. Sevastianov V.I. A Perfusion Bioreactor for Making Tissue Engineered Constructs / V.I. Sevastianov, **Yu.B. Basok**, A.M. Grigoryev, L.A. Kirsanova, V.N. Vasilets // Biomedical Engineering. – 2017. – Vol. 18. – № 3. – P. 162–165.
6. Sevastianov V.I. Formation of Tissue-Engineered Construct of Human Cartilage Tissue in a Flow-Through Bioreactor / V.I. Sevastianov, **Yu.B. Basok**, A.M. Grigor'ev, L.A. Kirsanova, V.N. Vasilets // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2017. – Vol. 164. – № 2. – P. 269–273.
7. Nemets E.A. Decellularized Human Liver Tissue Fragments to Create Cell – and Tissue-Engineered Liver Constructs / E.A. Nemets, L.A. Kirsanova, **Ju.B. Basok**, M.V. Lymareva, M.Ju. Schagidulin, V.I. Sevastianov // Current Trends in Biomedical Engineering & Biosciences. – 2017. – Vol. 8 – № 5. – P. 555747.
8. Немец Е.А. Особенности технологии децеллюляризации фрагментов печени человека как тканеспецифического мелкодисперсного матрикса для клеточно-инженерной конструкции печени / Е.А. Немец, Л.А. Кирсанова, **Ю.Б. Басок**, М.Ю. Шагидулин, С.Т. Метельский, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № 4. – С. 70–77.
9. **Басок Ю.Б.** Культивирование клеток печени человека и мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека в перфузионном биореакторе / **Ю.Б. Басок**, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, Н.П. Шмерко, Х.М. Хизроев, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 70–78.
10. Севастьянов В.И. Биосовместимые и матриксные свойства полилактидных губок / В.И. Севастьянов, А.М. Григорьев, **Ю.Б. Басок**, Л.А. Кирсанова, В.Н. Василец, А.П. Малкова, Г.А. Духина, Т.Е. Григорьев, Ю.Д. Загоскин, К.В. Токаев, Т.К. Токаев // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 2. – С. 82–90.
11. **Басок Ю.Б.** Сравнительное исследование процесса хондрогенной дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток, выделенных из разных источников / **Ю.Б. Басок**, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, И.В. Вахрушев, А.В. Цветкова, А.А. Грядунова, К.Н. Ярыгин, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 1. – С. 101–112.
12. Sevastianov V.I. Application of Supercritical Fluids for Complete Decellularization of Porcine Cartilage / V.I. Sevastianov, E.A. Nemets, A.E. Lazhko, **Y.B. Basok**, L.A. Kirsanova, A.D. Kirillova // Journal of Physics: Conference Series. – 2019. – Vol. 1347. – P. 012081.
13. **Басок Ю.Б.** Получение мелкодисперсного тканеспецифического децеллюляризованного матрикса из суставного хряща свиньи / **Ю.Б. Басок**, А.Д. Кириллова, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, Е.А. Немец, В.И. Севастьянов // Перспективные материалы. – 2020. – № 5. – С. 51–60.
14. Немец Е.А. Особенности получения тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного хряща свиньи / Е.А. Немец, А.Э. Лажко, **Ю.Б. Басок**,

- Л.А. Кирсанова, А.Д. Кириллова, В.И. Севастьянов // Сверхкритические флюиды. Теория и практика. – 2020. – Т. 15. – № 2. – С. 3–13.
15. **Basok Yu.B.** Fabrication of Microdispersed Tissue-Specific Decellularized Matrix from Porcine Articular Cartilage / **Yu.B. Basok**, A.D. Kirillova, A.M. Grigoryev, L.A. Kirsanova, E.A. Nemets, V.I. Sevastianov // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2020. – Vol. 11. – № 5. – P. 1153–1159.
16. Григорьев А.М. Экспериментальные подходы к созданию тканеспецифического матрикса для биоискусственной печени / А.М. Григорьев, **Ю.Б. Басок**, А.Д. Кириллова, Л.А. Кирсанова, Н.П. Шмерко, А.М. Суббот, Е.А. Немец, И.А. Милосердов, М.Ю. Шагидулин, В.И. Севастьянов // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 123–133.
17. Цветкова А.В. Хондрогенный потенциал МСК различного происхождения в условиях сфероидного культивирования / А.В. Цветкова, И.В. Вахрушев, **Ю.Б. Басок**, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, А.Ю. Лупатов, В.И. Севастьянов, К.Н. Ярыгин // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. – 2020. – № 4. – С. 237–246.
18. Баранова Н.В. Сравнительный анализ секреторной способности островков Лангерганса, культивированных с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелем и тканеспецифическим матриксом / Н.В. Баранова, Л.А. Кирсанова, А.С. Пономарева, Е.А. Немец, **Ю.Б. Басок**, Г.Н. Бубенцова, В.А. Сургученко, В.И. Севастьянов // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2019. – Т. 21. – № 4. – С. 45–53.
19. Пономарева А.С. Децеллюляризация фрагмента донорской поджелудочной железы для получения тканеспецифического матрикса / А.С. Пономарева, Л.А. Кирсанова, Н.В. Баранова, В.А. Сургученко, Г.Н. Бубенцова, **Ю.Б. Басок**, И.А. Милосердов, В.И. Севастьянов // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2020. – Т. 22. – № 1. – С. 123–133.
20. Кириллова А.Д. Создание тканеспецифического микродисперсного матрикса из децеллюляризованной печени свиньи / А.Д. Кириллова, **Ю.Б. Басок**, А.Э. Лажко, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, Е.А. Немец, В.И. Севастьянов // *Физика и химия обработки материалов*. – 2020. – № 4. – С. 41–50.
21. Шагидулин М.Ю. Функциональная эффективность клеточно-инженерной конструкции печени на основе тканеспецифического матрикса (экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности) / М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко, **Ю.Б. Басок**, А.М. Григорьев, А.Д. Кириллова, Е.А. Немец, Е.А. Волкова, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, В.И. Севастьянов, С.В. Готье // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 89–97.
22. Nemets E.A. Preparation of Tissue-Specific Matrix from Decellularized Porcine Cartilage / E.A. Nemets, **Y.B. Basok**, L.A. Kirsanova, A.D. Kirillova, V.I. Sevastianov, A.E. Lazhko // *Russ. J. Phys. Chem. B*. – 2020. – Vol. 18. – P. 1245–1251.
23. Tsvetkova A.V. Chondrogenic Potential of MSC from Different Sources in Spheroid Culture / A.V. Tsvetkova, I.V. Vakhrushev, **Y.B. Basok**, A.M. Grigor'ev, L.A. Kirsanova, A.Y. Lupatov, V.I. Sevastianov, K.N. Yarygin // *Bull Exp Biol Med*. – 2021. – Vol. 170. – № 4. – P. 528–536.

24. Kirillova A.D. Creating a Tissue-Specific Microdispersed Matrix from a Decellularized Porcine Liver / A.D. Kirillova, **Y.B. Basok**, A.E. Lazhko, A.M. Grigoryev, L.A. Kirsanova, E.A. Nemets, V.I. Sevastianov // Inorg. Mater. Appl. Res. – 2021. – Vol. 12. – № 3. – P. 812–819.
25. Немец Е.А. Сверхкритический диоксид углерода как метод снижения цитотоксичности биополимерных и тканеспецифических скаффолдов для тканевой инженерии / Е.А. Немец, А.Э. Лажко, А.М. Григорьев, В.Ю. Белов, В.А. Сургученко, **Ю.Б. Басок**, А.Д. Кириллова, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 104–113.
26. Sevastianov V.I. Comparison of the Capacity of Mesenchymal Stromal Cells for Cartilage Regeneration Depending on Collagen-Based Injectable Biomimetic Scaffold Type / V.I. Sevastianov, **Y.B. Basok**, L.A. Kirsanova, A.M. Grigoriev, A.D. Kirillova, E.A. Nemets, A.M. Subbot, S.V. Gautier // Life. – 2021. – Vol. 18. – № 8. – P. 756.

Патенты

1. Готье С.В., Севастьянов В.И., Шагидулин М.Ю., Немец Е.А., **Басок Ю.Б.** Тканеспецифический матрикс для тканевой инженерии паренхиматозного органа и способ его получения. Патент на изобретение RU 2693432 C2, 02.07.2019 (заявка № 2017136882 от 16.11.2016). Дата регистрации: 02.07.2019, опубликовано: 02.07.2019, Бюл. № 19.
2. Севастьянов В.И., **Басок Ю.Б.**, Немец Е.А., Кирсанова Л.А., Кириллова А.Д., Готье С.В. Способ получения тканеспецифического матрикса для тканевой инженерии хряща. Патент на изобретение RU 2716577 C1, 12.03.2020 (заявка № 2019115236 от 17.05.2019). Дата регистрации: 12.03.2020 г., опубликовано: 12.03.2020, Бюл. № 8.

Тезисы докладов

1. **Басок Ю.Б.**, Василец В.Н., Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И. Формирование тканеинженерной конструкции хрящевой ткани человека в проточном биореакторе. Материалы III Национального конгресса «Трансплантация и донорство органов», 2–4 октября 2017 года, г. Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № S. – С. 206.
2. **Басок Ю.Б.**, Василец В.Н., Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И. Разработка и применение малогабаритного биореактора для формирования хрящевой ткани человека. Материалы III Национального конгресса по регенеративной медицине, 15–18 ноября 2017 г., Москва. Гены и Клетки. – 2017. – Т. 12. – № 3. – С. 39–40.
3. Sevastianov V.I., **Basok Yu.B.**, Grigoryev A.M., Kirsanova L.A., Vasilets V.N., Gautier S.V. Technology of tissue engineering and regenerative medicine in the treatment of damaged articular cartilage. Proceedings of the 14th Sino-Russia sym-

- posium on advanced materials and technologies, 29 November – 2 December 2017, China, Sanya. – Beijing: The Metallurgical Industry Press, 2017. – P. 542–548.
4. **Basok Yu.B.**, Grigoryev A.M., Kirsanova L.A., Sevastianov V.I. Chondrogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells in a perfusion bioreactor. Proc. of the Sechenov International Biomedical Summit 2018, 21.05–23.05.2018, Moscow, Russia. – M.: Publishing house of Sechenov University, 2018. – P. 48.
 5. Вахрушев И.В., Цветкова А.В., Баскаев К.К., **Басок Ю.Б.**, Суббот А.М., Новиков И.А., Грядунова А.А., Каралкин П.А., Миронов В.А., Ярыгин К.Н. Сравнение хондрогенного потенциала различных типов мезенхимальных стромальных клеток в условиях трехмерного культивирования. Материалы IX Всероссийского съезда трансплантологов, 17–19 сентября 2018 года, г. Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № S. – С. 150.
 7. Vakhrushev I.V., Tsvetkova A.V., **Basok Yu.B.**, Grigoriev A.M., Gryadunova A.A., Karalkin P.A., Koudan E.V., Bulanova E.A., Hesuan Y.G., Mironov V.A., Yarygin K.N. Comparison of various sources of MSCs in regard to their potential use in cartilage bioprinting. Proc. of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society European Chapter Meeting. – Rhodes, Greece, 27–31 May 2019. – P. 1499.
 8. **Basok Yu.B.**, Kirillova A.D., Grigoryev A.M., Kuznetsova E.G., Kirsanova L.A., Nemets E.A. Creation of an injectable tissue-specific matrix from decellularized fragments of articular cartilage. Abstracts book. Sechenov International Biomedical Summit 2019, 20.05–21.05.2019, Moscow, Russia. – M.: Publishing house of Sechenov University, 2019. – P. 11–12.
 9. **Басок Ю.Б.**, Немец Е.А., Кирсанова Л.А., Григорьев А.М., Кириллова А.Д., Севастьянов В.И. Микродисперсный тканеспецифический матрикс для тканевой инженерии хряща. Материалы IV Национального конгресса «Трансплантация и донорство органов», 7–9 октября 2019 года, Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № S. – С. 164.
 10. **Басок Ю.Б.**, Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Кириллова А.Д., Севастьянов В.И. Создание тканеинженерной конструкции хрящевой ткани на основе микронизированного тканеспецифического децеллюляризованного матрикса суставного хряща свиньи. Материалы IV Национального конгресса по регенеративной медицине, 20–23 ноября 2019 года, Москва. Гены и клетки. – 2019. – Т. 14. – № S. – С. 36.
 11. **Басок Ю.Б.**, Кириллова А.Д., Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Севастьянов В.И. Децеллюляризованный суставной хрящ свиньи как матрикс для создания тканеинженерной конструкции. Материалы X Всероссийского съезда трансплантологов, 5–7 октября 2020 г., Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № S. – С. 131.
 12. **Басок Ю.Б.**, Кириллова А.Д., Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Перова Н.В., Севастьянов В.И. Разработка подходов для стимуляции регенерации суставного хряща на основе использования коллагенсодержащих носителей и мезенхимальных стромальных клеток. IV Международный

конгресс ассоциации ревмоортопедов: Тезисы докладов конгресса, Москва, 18–19 сентября 2020 года / Редколлегия: М.А. Макаров [и др.]. – М.: Научная книга, 2020. – С. 8–10.

13. Kirillova A.D., **Basok Yu.B.**, Lazhko A.E., Kirsanova L.A., Nemets E.A., Sevastianov V.I. Efficiency of using supercritical carbon dioxide for decellularization of articular cartilage. Abstracts book. Sechenov International Biomedical Summit 2020, 17.11–18.11.2020, Moscow, Russia. – М.: Publishing house of Sechenov University, 2020. – P. 16.

Список сокращений

БМКГ	– биополимерный микрогетерогенный гидрогель
ВКМ	– внеклеточный матрикс
ГАГ	– гликозаминогликаны
ДХс	– децеллюляризованный хрящ свиньи
КИК	– клеточно-инженерная конструкция
м-БСА	– метилированный бычий сывороточный альбумин
МСК ЖТч	– мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека
ОА	– остеоартроз
ПАВ	– поверхностно-активные вещества
ск-СО ₂	– сверхкритический СО ₂
СЭМ	– сканирующая электронная микроскопия
УЗ	– ультразвук
SDS	– додецилсульфат натрия
TGF-β	– трансформирующий фактор роста бета

**МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИЙ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

ПРОФИЛАКТИКА ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Гаджиева П.М., Цирульников О.М.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ-инфекция) остается одним из наиболее частых инфекционных осложнений вирусной этиологии у реципиентов солидных органов, влияющих на течение посттрансплантационного периода [Сагидуллина Л.С., 2015; Руководство по трансплантации почки, 2014; Toungouz M., 1994; Sullivan V., 1992].

Частота эпизодов цитомегаловирусной инфекции у пациентов после трансплантации почки варьирует от 10 до 70%, что связано с различными схемами профилактики, степенью иммуносупрессивной терапии, различными методами диагностики инфекции, а также сроками наблюдения после трансплантации почки [Gardiner B.J., 2018; Kranz B., 2008; Fishman J.A., 2007]. Степень выраженности клинических проявлений варьирует от полностью бессимптомного течения до цитомегаловирусного заболевания (ЦМВ-заболевания). Ранее, когда противовирусная профилактика и контроль широко не использовались в клинической практике, частота встречаемости цитомегаловирусного синдрома составляла 60%, а цитомегаловирусного заболевания – 30% [Hodson E.M., 2013].

Цитомегаловирусная инфекция у реципиентов после трансплантации почки является причиной различных нежелательных событий, таких как миелодепрессия, дисфункция трансплантата. После трансплантации почки цитомегаловирусная инфекция и цитомегаловирусное заболевание связаны с повышенным риском отторжения аллотрансплантата и преждевременной смерти, что потребовало разработки стратегии профилактики цитомегаловирусной инфекции [Eid A.J., 2010; Hodson E.M., 2005; Murphy E., 2003; Smith J.D., 1974].

Разработка эффективных противовирусных препаратов для контроля цитомегаловирусной инфекции, таких как ганцикловир и валганцикловир, улучшенные методы диагностики и использование профилактики

цитомегаловирусной инфекции стали важной вехой в улучшении результатов трансплантации почки путем снижения риска цитомегаловирусной инфекции, а также риска острого и хронического отторжения [Manuel O., 2013; Kranz B., 2008; Arthurs S.K., 2008; Hassan, J., 2007; Opelz G., 2004].

На сегодняшний день выполнено большое количество исследований в области изучения цитомегаловирусной инфекции после трансплантации почки у взрослых пациентов, но их число ограничено в педиатрических программах трансплантации почки.

Важность профилактики цитомегаловирусной инфекции для реципиентов почки детского возраста обусловлена, помимо прочего, длительной медикаментозной иммуносупрессивной терапией у пациентов с аутоиммунными заболеваниями до проведения трансплантации почки [Camacho-Gonzalez A.F., 2013].

Анализ накопленного опыта в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России) в области педиатрической трансплантации почки является актуальным и своевременным для изучения влияния ЦМВ-инфекции на клинические результаты трансплантации почки у реципиентов детского возраста, определения связи между репликацией вируса и уровнем подавления иммунного ответа пациента и разработки эффективного протокола профилактики цитомегаловирусной инфекции.

Цель исследования

Улучшение результатов педиатрической трансплантации почки путем оптимизации профилактики цитомегаловирусной инфекции.

Задачи исследования

1. Определить частоту и характер проявлений цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста в условиях применения профилактики.
2. Оценить риск возникновения нежелательных событий, связанных с цитомегаловирусом, у реципиентов почки детского возраста, в зависимости от стратегии профилактики цитомегаловирусной инфекции.
3. Провести сравнительный анализ безопасности стратегий профилактики цитомегаловирусной инфекции.
4. Разработать алгоритм профилактики цитомегаловирусной инфекции у детей до и после трансплантации почки.

Научная новизна

Впервые на основании клинико-анамнестических данных и лабораторных методов исследования проанализированы результаты применения профилактики цитомегаловирусной инфекции до, на ранних и отдаленных сроках после трансплантации почки и доказана возможность контролируемого течения цитомегаловирусной инфекции, а именно снижения количества инфекционных и нежелательных иммунологических событий: цитомегаловирус-опосредованного отторжения почки и дисфункции трансплантированной почки у реципиентов детского возраста.

Впервые разработаны принципы профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста с учетом иммунологических рисков (совместимости по гаплотипу и локусу DR).

Теоретическая и практическая значимость

Разработанная в ходе исследования стратегия оптимизации иммуносупрессивной терапии позволяет контролировать не только цитомегаловирусную инфекцию, но и другие оппортунистические инфекции, а также посттрансплантационные лимфопролиферативные заболевания.

Разработаны протоколы дооперационного мониторинга и диагностики цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста.

Разработаны протоколы профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста.

Практическое значение имеет созданная в ходе исследования методика длительной медикаментозной профилактики цитомегаловирусной инфекции у детей после трансплантации почки, а также разработанные алгоритмы до- и посттрансплантационного обследования, лечения и профилактики цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста.

Методология и методы исследования

В исследовании проведен статистический анализ клинических данных схем профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции, лабораторных и инструментальных исследований до, во время и после трансплантации почки у детей.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Цитомегаловирусная инфекция у детей после трансплантации почки может быть контролируемой при использовании разработанных методов мониторинга активности инфекционного процесса (регулярная лабораторная диагностика виремии) в сочетании с длительной медикаментозной профилактикой.

2. Основополагающими факторами эффективной профилактики цитомегаловирусной инфекции являются: своевременная диагностика и мониторинг активности инфекции методом количественной полимеразной цепной реакции; проведение длительной медикаментозной профилактики препаратами ганцикловира или валганцикловира (не менее 200 дней после трансплантации почки, удлинение курса профилактики при рецидивирующем течении инфекционного процесса) в сочетании со снижением степени иммуносупрессии.
3. Использование длительной медикаментозной профилактики цитомегаловирусной инфекции в сочетании со снижением степени иммуносупрессии и/или модуляцией доз противовирусных препаратов позволяет существенно снизить частоту цитомегаловирусных заболеваний у детей после трансплантации почки, а также избежать цитомегаловирус-ассоциированного отторжения трансплантата почки, дисфункции трансплантата почки.
4. Разработанные алгоритмы профилактики и лечения цитомегаловирусной инфекции позволяют оптимизировать тактику ведения реципиентов в послеоперационном периоде и улучшить результаты трансплантации почки у детей.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований с использованием современных методов статистической обработки.

Апробация работы состоялась 16 июля 2021 года на совместной конференции научных и клинических подразделений Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Основные результаты работы доложены и обсуждены на X Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (Москва, 2020 г.), а также Пятом российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2021 г.).

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в педиатрическом отделении, хирургическом отделении № 1, № 2 ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в учебном процессе на кафедре трансплан-

тологии и искусственных органов Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), в лечебном процессе отдела трансплантации органов детям Обособленного структурного подразделения «Российская детская клиническая больница» Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 научные работы, из них 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике пациентов и методам исследования, главы результатов собственных исследований, обсуждения, 4 выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 168 источников, из них 29 отечественных и 140 зарубежных. Работа изложена на 103 страницах машинописного текста, иллюстрирована 9 таблицами и 14 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включено 124 ребенка, перенесших операцию первичной трансплантации почки в период с 2018-го по 2021 г. в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России и находившихся под амбулаторным наблюдением не менее трех месяцев после проведенной операции (от 108 до 1803 ($623,5 \pm 379,5$) дней). Из них 65 (52,4%) мальчиков и 59 (47,6%) девочек в возрасте от 1 года до 17 ($10,6 \pm 5$) лет, с массой тела от 2 до 71 ($29,5 \pm 14,7$) кг, получившие трансплантат от посмертного ($n = 43$) и от живого родственного ($n = 81$) донора. Показанием к проведению трансплантации почки являлась терминальная стадия хронической болезни почек (ХБП).

Все пациенты, имеющие показания к трансплантации почки, проходили плановое обследование согласно протоколу ведения пациентов в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, Национальным клиническим рекомендациям по трансплантации почки и Международным клиническим рекомендациям KDIGO (англ., Kidney Disease: Improving Global Outcomes, Инициатива по улучшению глобальных исходов заболеваний почек). Обследование потенциального родственного донора почки перед трансплантацией проводилось по принятой в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России методике. Донорами почки ($n = 81$) стали родственники (26 мужчин и 55 женщин) в возрасте от 22 до 58 лет ($28,8 \pm 6,0$ года).

Пациенты с подтвержденным носительством ЦМВ, у которых отсутствовала репликация вируса (30%), не требовали специальной подготовки в дооперационном периоде. Потенциальные реципиенты почки с подтвержденной ЦМВ-инфекцией получали ганцикловир внутривенно в дозе 5 мг/кг каждые 12 часов в зависимости от клиренса креатинина до получения двух отрицательных результатов ДНК ЦМВ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Плановое обследование после трансплантации почки включало клинический осмотр, ультразвуковое исследование трансплантированной почки, динамику изменений общих и биохимических показателей крови с определением концентрации иммуносупрессантов, общий анализ мочи, определение креатинина мочи, бактериологическое исследование, выявление количества копий цитомегаловируса проводились с помощью ПЦР. Степень острого клеточного отторжения и гуморального отторжения трансплантата почки оценивалась согласно рекомендованной классификации Banff 2017 года.

В исследовании использовались различные схемы иммуносупрессивной терапии: 118 (95,2%) пациентов получали стандартную индукционную иммуносупрессию базиликсимабом и метилпреднизолоном, 6 (4,8%) было необходимо дополнительное применение антитимоцитарного иммуноглобулина; циклоспорин назначался вместо такролимуса у семи пациентов, а также у восьми пациентов к терапии добавлялся эверолимус.

Целевая концентрация такролимуса в течение 6 месяцев после трансплантации составляла от 7 до 9 нг/мл, в более поздних сроках допускалось снижение уровня концентрации до 4 нг/мл под контролем уровня креатинина в сыворотке крови. В случае выраженной нейротоксичности с развитием Press-синдрома, судорожного синдрома проводилась отмена такролимуса, назначение циклоспорина.

Вне зависимости от анамнестических данных наличия ЦМВ-инфекции во всех случаях профилактически назначался ганцикловир в дозировке 5 мг/кг/сутки, внутривенно с первых суток после трансплантации.

В случае выявления выраженной цитопении (лейкопения, нейтропения и/или тромбоцитопения), выраженной азотемии на фоне отсроченной

функции трансплантата профилактическое назначение ганцикловира откладывалось на срок до улучшения лабораторных показателей (снижение степени цитопении, азотемии) или до момента выявления активной ЦМВ-инфекции.

Далее проводилась смена ганцикловира на принимаемый внутрь валганцикловир в профилактической дозировке, рассчитанной по формуле Asberg. Период проведения профилактики определялся как срок не менее 180 дней после трансплантации, с последующей пролонгацией курса профилактики в зависимости от частоты рецидивирования ЦМВ-инфекции, степени тяжести перенесенной ЦМВ-инфекции (бессимптомное течение или ЦМВ-заболевание). В случае выявления рецидива ЦМВ-инфекции после прекращения профилактики проводилась терапия ЦМВ-инфекции с последующим переходом на профилактический прием.

В случае выявления активной ЦМВ-инфекции назначалась противовирусная терапия: ганцикловир внутривенно или валганцикловир внутрь. Ганцикловир назначался реципиентам, находящимся на стационарном лечении, использовалась стандартная лечебная дозировка 10 мг/кг/сутки, разделенная на два введения. Валганцикловир назначался реципиентам, находящимся под амбулаторным наблюдением для приема каждые 12 часов, дозировка валганцикловира определялась по алгоритму расчета, наиболее близкому к предложенному. В случае неэффективности приема валганцикловира назначается ганцикловир 10 мг/кг/сутки.

В случае неэффективности монотерапии ганцикловиром 10 мг/кг/сутки добавляли иммуноглобулин человека нормальный 5 мл/кг/сутки в сочетании со снижением уровня иммуносупрессивной терапии. В случае неэффективности этого протокола увеличивали дозировку ганцикловира до 20 мг/кг/сутки, дополнительно снижали иммуносупрессивную терапию вплоть до полной отмены, особенно при выявлении клинической картины ЦМВ-заболевания.

В случаях сохраняющейся ЦМВ-виремии, сопровождающейся ухудшением функции трансплантата, проводилось редуцирование иммуносупрессивной терапии, снижение концентрации такролимуса, отмена микофенолатов и назначение ингибиторов пролиферативного сигнала.

Эффективность лечения оценивалась выявлением ДНК ЦМВ с определением уровня вирусной нагрузки, кратность исследований варьировала от 1 раза/неделю до 1 раза/день в тех случаях, когда наблюдалось тяжелое течение ЦМВ-заболевания. По достижении необходимого лабораторного и клинического эффектов проводилось контрольное исследование ДНК ЦМВ до получения не менее двух повторных отрицательных результатов с интервалом 7 дней – для эпизодов ЦМВ-инфекции без клинических проявлений, не менее трех повторных отрицательных результатов с интервалом 7 дней – для эпизодов ЦМВ-заболеваний. Далее проводилась смена лечебного протокола на профилактический.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 2.2.0 (разработчик ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка ($n < 50$) или критерия Колмогорова–Смирнова ($n > 50$). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q1 - Q3$). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна–Уитни. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела–Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма. Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Анализ частоты эпизодов цитомегаловирусной инфекции у детей – реципиентов почки

Проведен ретроспективный анализ результатов первичной трансплантации почки у 124 пациентов детского возраста с 2018-го по 2021 г., которые получали профилактику ЦМВ-инфекции по одной из принятых схем (стратегий) лечения. Шесть реципиентов были исключены из исследования, т. к. при анализе историй болезни было выявлено, что прием противовирусных препаратов был самостоятельно прекращен. В трех из этих шести случаев имело место развитие ЦМВ-заболевания в виде ЦМВ-гепатита ($n = 1$), ЦМВ-пневмонии ($n = 1$), ЦМВ-энтерита ($n = 1$), в трех из этих шести случаев отмечался ЦМВ-синдром и последующая дисфункция трансплантата. 118 детей – реципиентов почки прошли полный курс профилактики ЦМВ-инфекции.

В исследование включено 118 детей, перенесших операцию первичной трансплантации почки в период с января 2018-го по июль 2021 г. в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, из них 63 (53,4%) мальчика и 55 (46,6%) девочек в возрасте от 1 года до 17 (11 [7; 14,5]) лет, с массой тела от 7 до 71 ($30 \pm 14,5$) кг, получивших трансплантат от посмертного ($n = 37$) или живого родственного ($n = 81$) доноров. Срок наблюдения реципиентов почки детского возраста составил от 108 до 1803 ($623,5 \pm 379,5$) дней.

Проанализированы частота реактивации ЦМВ-инфекции в зависимости от степени иммуносупрессивной терапии и совместимости по группе крови донор/реципиент, тканевой совместимости (HLA).

Установлено, что в группе реципиентов, получивших АВ0-совместимые трансплантаты ($n = 113$), частота развития событий ЦМВ-инфекции составила 31% ($n = 35$) после трансплантации почки. В группе АВ0-несовместимых ($n = 5$) частота развития событий ЦМВ-инфекции составила 40% ($n = 2$) после трансплантации почки. Сравнительный анализ показал отсутствие достоверных различий встречаемости ЦМВ-инфекции в зависимости от совместимости реципиента и донора по группе крови ($p = 0,67$) (рис. 1, А).

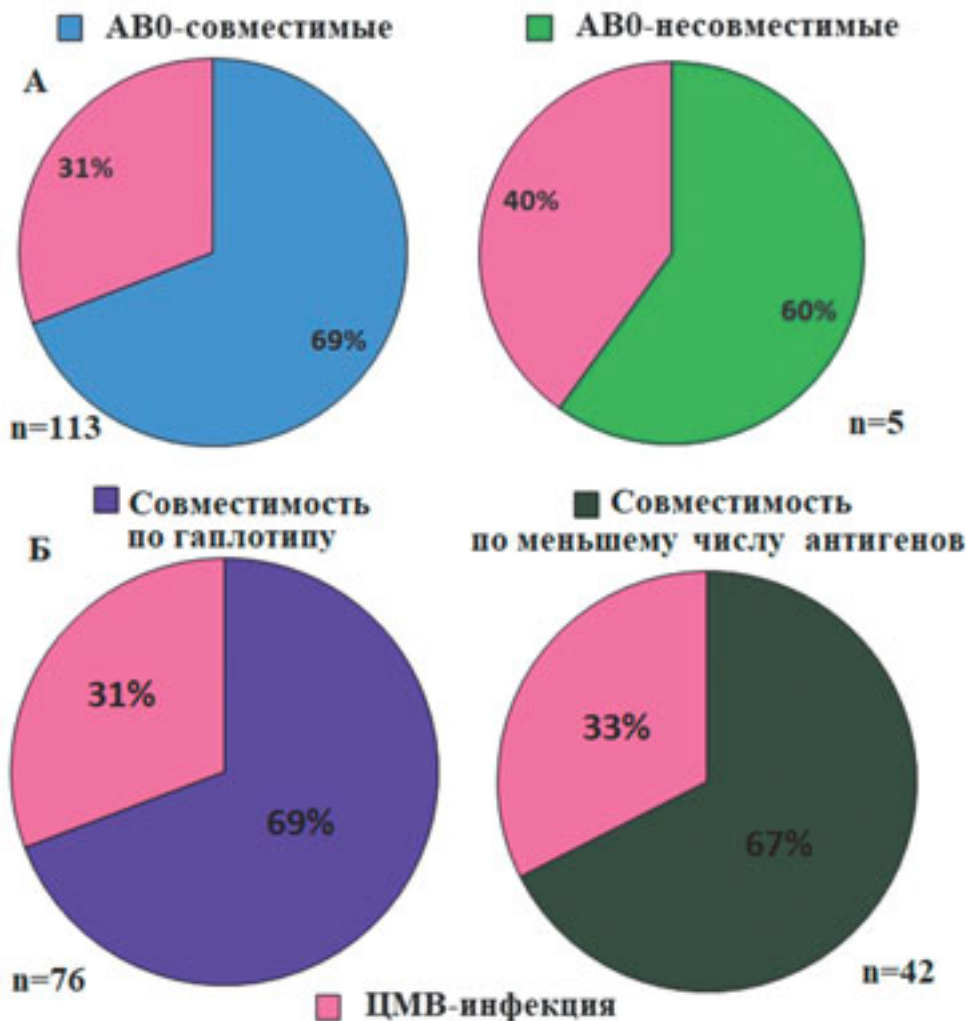


Рис. 1. Частота встречаемости цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции) в зависимости от совместимости реципиента и донора по группе крови (А), в зависимости от степени тканевой совместимости реципиента и донора (Б)

Из 76 совпавших пар донор – реципиент по гаплотипу (локус A, B, DR), у 24 (31,5%) реципиентов выявлена ЦМВ-инфекция. Среди пар, у которых не было совместимости по гаплотипу ($n = 42$), ЦМВ-инфекция встречалась у 13 (30,9%) реципиентов. Сравнительный анализ встречаемости ЦМВ-инфекции у реципиентов, как совместимых по гаплотипу с донором, так и при меньшей степени совместимости, показал отсутствие достоверных различий в группах ($p = 0,94$) (рис. 1, Б).

При оценке совместимости реципиента и донора по локусу DR выявлено, что среди 99 совместимых пар – у 30 (30,3%) реципиентов выявлялась ЦМВ-инфекция, а среди пар, где не было совместимости по локусу DR ($n = 19$) – у 7 (36,8%) реципиентов обнаружилась ЦМВ-инфекция. Сравнительный анализ показал отсутствие достоверных различий во встречаемости ЦМВ-инфекции у совместимых и не совместимых по локусу DR пар ($p = 0,57$). Также отсутствовала корреляция между числом несовпадений (mismatch, MM) и активацией ЦМВ-инфекции ($r = 0,07$, $p = 0,4$).

Результаты профилактики цитомегаловирусной инфекции

На основе анализа историй болезни и амбулаторных карт все реципиенты были разделены на две группы, в зависимости от применяемой у них после трансплантации почки стратегии профилактики ЦМВ-инфекции.

В Стратегию 1 (универсальная профилактика) включен 71 реципиент детского возраста после первичной трансплантации почки в период с 2018-го по 2021 г. Среди оперированных детей было 30 (42,3%) девочек и 41 (57,7%) мальчик в возрасте от 1 года до 17 (10 ± 5) лет, с массой тела от 8 до 57 ($28 \pm 14,7$) кг. В исследование включены дети, получившие трансплантат от посмертного ($n = 23$) и от живого родственного ($n = 48$) донора. Реципиенты получали универсальную профилактику ЦМВ-инфекции, которая представлена валганцикловиром с расчетом дозы по методу Asberg в течение 6 месяцев; при выявлении репликации вируса валганцикловир назначался в лечебной дозе.

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

При сравнительном анализе демографических данных реципиентов почки в зависимости от выбранной Стратегии установлено, что в группе

Стратегия 1 возраст детей достоверно ниже, чем в группе Стратегия 2 ($p = 0,010$) (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительный анализ демографических данных реципиентов почки

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

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

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

В табл. 2 представлены характеристики тканевой совместимости в зависимости от гаплотипа, количества несовместимостей (ММ) и совместимости по локусу DR, а также варианта трансплантата.

Таблица 2

Характеристика тканевой совместимости донора и реципиента

Характеристика	Стратегия 1 (n = 71)	Стратегия 2 (n = 47)	p
Вариант трансплантата:			
от прижизненного родственного донора, n (%)	48 (67,6)	33 (70,2%)	0,71
от посмертного донора, n (%)	23 (32,3%)	14 (29,8%)	
Совместимость по гаплотипу (A, B, DR), n (%)	45 (63,3%)	31 (65,9%)	0,74
Совместимость по локусу DR, n (%)	59 (83%)	40 (85,1%)	0,71
Количество ММ	3 (0;5)	3 (1;6)	0,44

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

У наблюдаемых реципиентов почки Стратегия 1 применялась чаще, чем Стратегия 2, на 20% (n = 24).

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

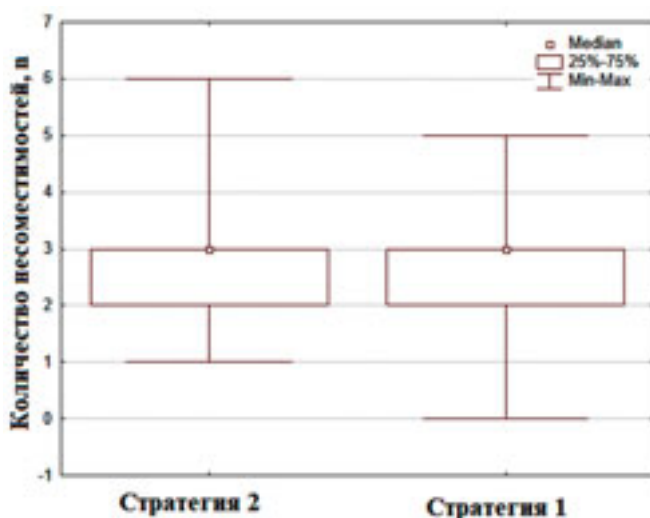


Рис. 2. Сравнительный анализ количества несовместимостей в исследуемых группах

Активная ЦМВ-инфекция у детей-реципиентов через 3 месяца после трансплантации почки при Стратегии 1 была выявлена у 37 (52%) реципиентов (ЦМВ-виремия). При Стратегии 2 – у 18 (38%) реципиентов через 3 месяца была выявлена активная ЦМВ-инфекция. В группе Стратегия 1 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 1700 [600; 11 000] копий/мл, в группе Стратегия 2 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 800 [600; 1875] копий/мл.

При оценке виремии ЦМВ в исследуемых группах были получены результаты, представленные в табл. 3.

Таблица 3
Активация цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции) у реципиентов детского возраста через 3 месяца после трансплантации почки

Категория	ЦМВ-инфекция – 3 мес. n (%)		p
	Отсутствие репликации	Выявление репликации	
Стратегия 1	34 (54,0%)	37 (67,3%)	0,141
Стратегия 2	29 (46,0%)	18 (32,7%)	
Всего	63	55	

Сравнительный анализ показал отсутствие статистической значимости в частоте встречаемости ЦМВ-инфекции через 3 месяца после трансплантации почки ($p = 0,141$).

Проведен сравнительный анализ медианы концентраций ДНК ЦМВ у реципиентов почки при применении Стратегии 1 и Стратегии 2 через 3 месяца после трансплантации (рис. 3).

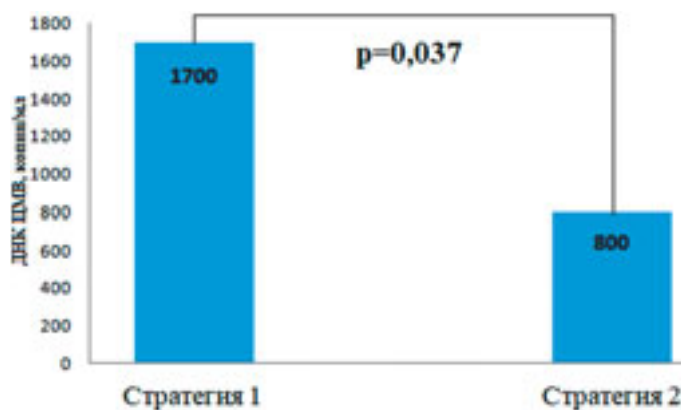


Рис. 3. Сравнительный анализ медианы концентраций ДНК цитомегаловируса (ЦМВ) у реципиентов почки детского возраста при применении Стратегии 1 (n = 71) и Стратегии 2 (n = 47) через 3 месяца после трансплантации

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

У большей части реципиентов почки эпизод активной ЦМВ-инфекции пришелся на ранний послеоперационный срок, т. е. развился в течение 14 дней после трансплантации почки.

К моменту завершения исследования, срока наблюдения 6 месяцев достигли 103 реципиента, что составило 87,3% от общего количества пациентов, включенных в исследование. Через 6 месяцев после трансплантации при Стратегии 1 у 26 (41,9%) из 62 реципиентов возникла ЦМВ-инфекция. При Стратегии 2 – у 12 (29,3%) из 41 реципиента через 6 месяцев также была зафиксирована ЦМВ-инфекция. В группе Стратегия 1 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 0 [0; 615] копий/мл, в группе Стратегия 2 медиана концентрации ДНК ЦМВ составила 0 [0; 508] копий/мл ($p = 0,178$).

Проведен сравнительный анализ частоты активации ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста через шесть месяцев после трансплантации почки в исследуемых группах (табл. 4).

Хотя сравнительный анализ показал отсутствие статистически значимых различий между группами ($p = 0,191$), частота репликации ЦМВ в группе Стратегия 1 почти вдвое превышала таковую в группе Стратегия 2.

Таблица 4

**Активация цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции)
у реципиентов детского возраста через 6 месяцев
после трансплантации почки**

Категория	ЦМВ-инфекция – 6 мес. n (%)		p
	Отсутствие репликации	Выявление репликации	
Стратегия 1	36 (55,4%)	26 (68,4%)	0,191
Стратегия 2	29 (44,6%)	12 (31,6%)	
Всего	65	38	

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

Проведен сравнительный анализ частоты активации ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста через 12 месяцев после трансплантации почки в исследуемых группах (табл. 5).

Таблица 5

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

Категория	ЦМВ-инфекция – 12 мес. n (%)		p
	Отсутствие репликации	Выявление репликации	
Стратегия 1	37 (59,7%)	14 (87,5%)	0,037*
Стратегия 2	25 (40,3%)	2 (12,5%)	
Всего	62	16	

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

Сравнительный анализ показал, что активация ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста возникает чаще при использовании Стратегии 1 ($p = 0,037$).

На рис. 4 продемонстрирована частота активации ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста через 12 месяцев после трансплантации почки.

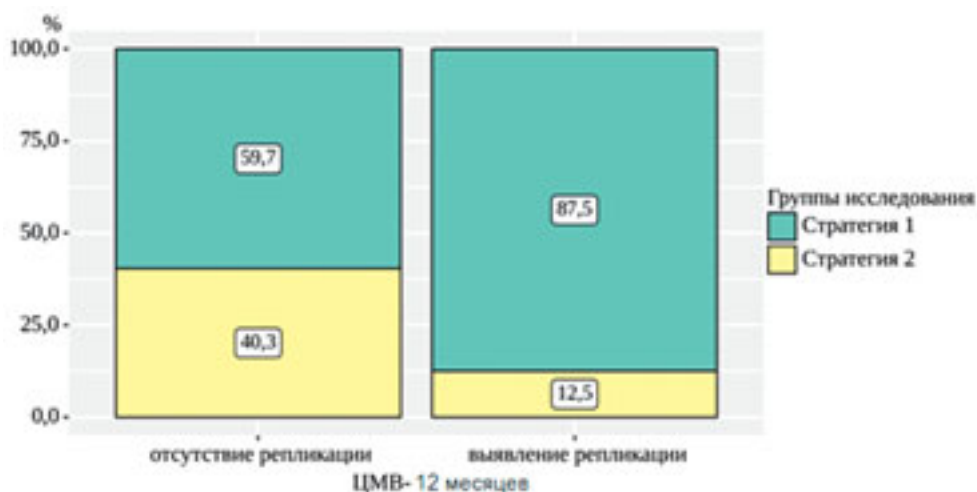


Рис. 4. Активация цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-инфекции) у реципиентов детского возраста через 12 месяцев после трансплантации почки

Выполнен анализ количества рецидивов ЦМВ-инфекции в зависимости от выбранной стратегии профилактики ЦМВ-инфекции у детей после трансплантации почки за весь период наблюдения (табл. 6).

Таблица 6

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

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

Не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,281$) по количеству реактивации ЦМВ-инфекции между двумя стратегиями. Однако, как видно из таблицы, у реципиентов, у которых применялась Стратегия 1, общее количество рецидивов было больше.

В качестве дополнительной оценки эффективности профилактики был использован обобщенный годовой показатель частоты рецидивов ЦМВ-инфекции. При Стратегии 1 кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ-инфекции составила 80% (ДИ 95% 0,67–0,95). При Стратегии 2 кумулятивная вероятность реактивации ЦМВ-инфекции составила 55% (ДИ 95% 0,41–0,73). При сравнительном анализе кумулятивных вероятностей активации ЦМВ-инфекции при Стратегии 1 и 2 не было выявлено различий в частоте рецидивов ЦМВ-инфекции между группами ($p = 0,057$).

Развитие нежелательных событий у реципиентов почки детского возраста в зависимости от выбора стратегии профилактики цитомегаловирусной инфекции

Оценка частоты иммунологических событий (отторжение)

Случаев отторжения, связанных с активацией ЦМВ-инфекции у реципиентов детского возраста при проведении профилактики, не было выявлено. Однако было верифицировано пять случаев отторжения: в трех случаях антителоопосредованное (гуморальное) отторжение ($n = 3$), в двух случаях – клеточное ($n = 2$). В двух случаях антителоопосредованное отторжение было ассоциировано с самостоятельным прекращением приема иммуносупрессивной терапии, в одном случае гуморальное отторжение развилось в ранние сроки после проведения трансплантации почки, и также не было ассоциировано с ЦМВ-инфекцией, так как она отсутствовала.

Клеточное отторжение ($n = 2$) в первом случае было ассоциировано с тяжелым течением пиелонефрита в ранние сроки после проведения трансплантации, потребовавшим снижения доз иммунодепрессантов, во втором случае оно было ассоциировано редукцией иммуносупрессии при тяжелой полиомавирусной инфекции.

Оценка гематологических осложнений (цитотоксичность)

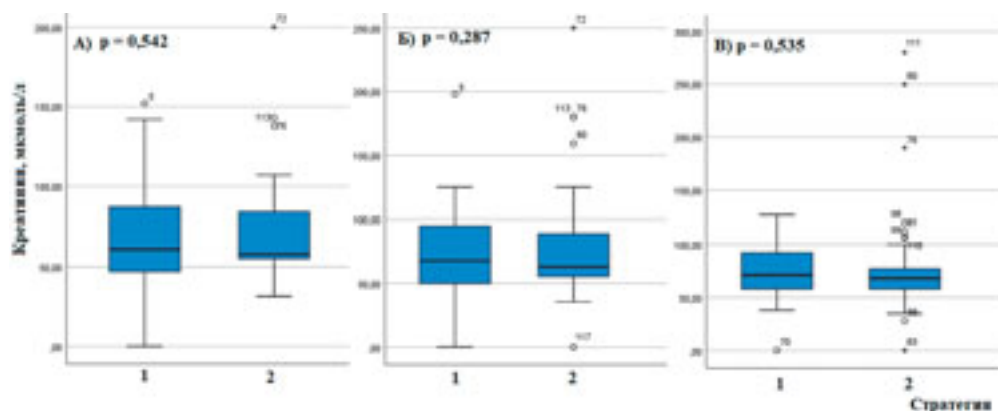
Наличие ЦМВ-инфекции и прием противовирусных препаратов (ганцикловир, валганцикловир) могут вызывать лейко- и тромбоцитопению.

Цитопения встречалась у 16 детей (13,5%). В восьми случаях цитопения была связана с приемом препаратов микофеноловой кислоты, уровень клеток был восстановлен после коррекции иммуносупрессивной терапии. В пяти случаях при Стратегии 1 отмечалась лейкопения, ассоциированная с ЦМВ-виремией в первые 200 дней профилактики при рецидиве ЦМВ-инфекции, уровень клеток полностью восстановлен после начала противовирусной терапии валганцикловиром. Аналогично три случая лейкопении наблюдались при Стратегии 2 и также были ассоциированы с ЦМВ-виремией.

При анализе наличия цитопении через 3, 6 месяцев между группами не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,396$, $p = 0,738$ соответственно). Через 12 месяцев после трансплантации почки в исследуемых группах цитопении не наблюдалось.

Функция почечных трансплантатов и исходы трансплантации

На рис. 5 показаны уровни креатинина в сыворотке крови у реципиентов через 3, 6, 12 месяцев после трансплантации почки в зависимости от варианта стратегии профилактики ЦМВ-инфекции. Не было выявлено дисфункции трансплантата, медианы уровня креатинина находились в пределах референсных значений.



**Рис. 5. Сравнительный анализ уровня креатинина в сыворотке крови при стратегиях 1 и 2:
А – через 3 мес.; Б – через 6 мес.; В – через 12 мес.**

Уровни креатинина в сыворотке крови у реципиентов почки статистически не различались в различные сроки после трансплантации (3, 6, 12 месяцев) вне зависимости от стратегии профилактики ЦМВ-инфекции.

Был изучен исход лечения в зависимости от применяемой стратегии профилактики ЦМВ-инфекции (табл. 7).

Таблица 7

Исход лечения пациентов в зависимости от применяемой стратегии профилактики цитомегаловирусной инфекции

Исход	Стратегия профилактики		Общий итог (n = 118)
	Стратегия 1 (n = 71)	Стратегия 2 (n = 47)	
Возврат на ГД	1	3	4
Смерть с функционирующим трансплантатом	2	1	3
Функционирующий трансплантат	68	43	111

Ни один из неблагоприятных исходов, таких как утрата функции трансплантата (n = 1), смерть с функционирующим трансплантатом (n = 3), не был связан с исходным заболеванием, с функцией трансплантата и оппортунистическими инфекциями, в том числе ЦМВ-инфекцией.

Проведен сравнительный анализ выживаемости без нежелательных событий (летальность, отторжение, возврат на гемодиализ) у реципиентов почки в зависимости от стратегии профилактики ЦМВ-инфекции (рис. 6).

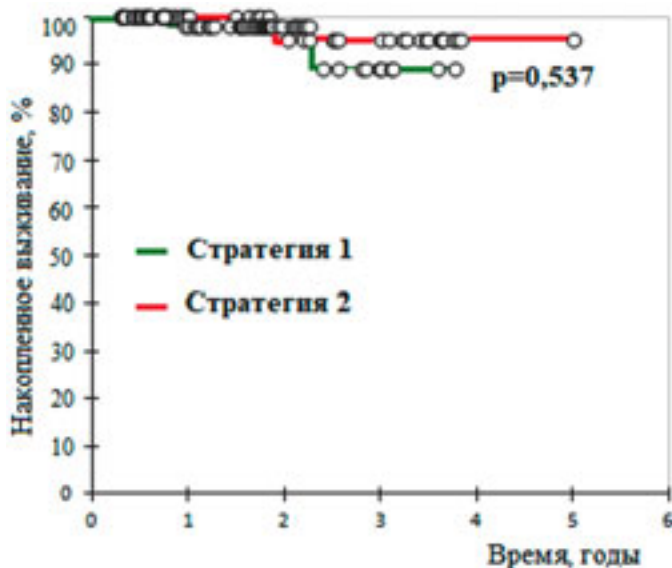


Рис. 6. Сравнение выживаемости без нежелательных событий (летальность, отторжение, возврат на гемодиализ) у реципиентов почки в зависимости от стратегии профилактики цитомегаловирусной инфекции

Исходя из полученных данных, можно видеть, что анализируемые группы статистически не различались в отношении выживаемости без нежелательных событий в первый год после трансплантации почки ($p = 0,537$).

Результаты профилактики цитомегаловирусной инфекции в отдаленном периоде

До конца периода наблюдения не было зафиксировано ни одного случая хронического отторжения, связанного с ЦМВ-инфекцией. Единственный случай хронического отторжения развился на фоне снижения уровня иммуносупрессии при лечении новой коронавирусной инфекции. ЦМВ-виремии у данного реципиента не было.

Результаты настоящего исследования подтверждают гипотезу об эффективности применения обеих стратегий профилактики ЦМВ-инфекции у реципиентов почки детского возраста. Однако использование терапии определяется индивидуальными характеристиками пациента, что требует персонифицированного подхода в выборе алгоритма профилактики. Назначение Стратегии 2 возможно у реципиентов почки с клинико-анамнестическими и лабораторными показателями, позволяющими снизить уровень иммуносупрессии. При отсутствии такой возможности и риске развития осложнений, связанных с ЦМВ-инфекцией, применяется Стратегия 1 (универсальная профилактика).

Таким образом, цитомегаловирусная инфекция у детей после трансплантации почки может быть контролируемой при применении одной из исследуемых стратегий длительной медикаментозной профилактики в сочетании с лабораторным мониторингом активности инфекционного процесса (ДНК ЦМВ).

Алгоритм профилактики цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста

На основании проведенного исследования был разработан алгоритм диагностики, профилактики и лечения ЦМВ-инфекции у реципиентов почки детского возраста (рис. 7).

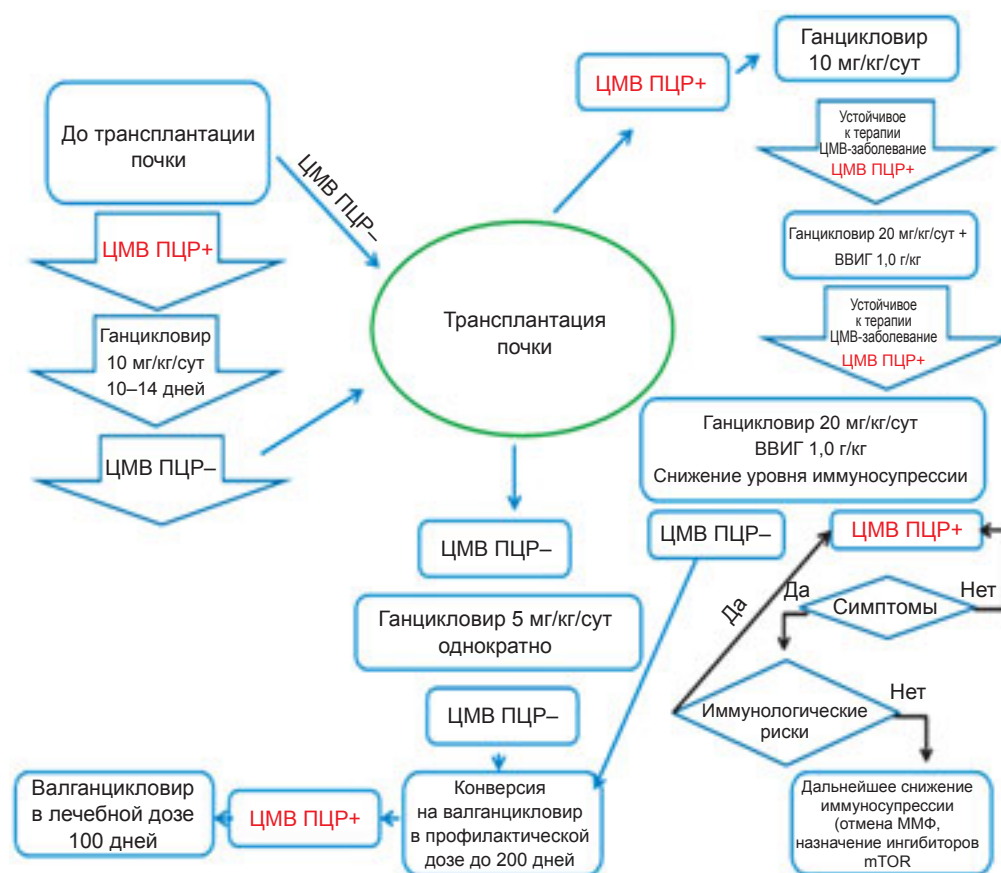


Рис. 7. Алгоритм профилактики цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста

Для диагностики и последующего контроля эффективности профилактики и лечения ЦМВ-инфекции в плазме или цельной крови реципиента

проводится исследование наличия ДНК ЦМВ. При выявлении положительного результата ДНК ЦМВ до трансплантации почки назначается противовирусная терапия ганцикловиром в дозе 10 мг/кг/сут в течение трех недель, с последующей конверсией на валганцикловир в профилактической дозе после получения двух последовательных отрицательных результатов ПЦР.

Продолжительность профилактики составляет минимум 200 дней. При лечении отторжения, ЦМВ-заболевания последующая длительность профилактики составляет 100 дней.

При выявлении бессимптомной ЦМВ-виремии после трансплантации почки назначается противовирусная терапия ганцикловиром 10 мг/кг/сут. продолжительностью не менее 14 дней. При выявлении устойчивости ЦМВ к проводимой терапии последовательно осуществляется коррекция терапии: снижение уровня иммуносупрессии, назначение иммуноглобулина, применение двойной дозировки ганцикловира.

При ганцикловир-резистентном течении у реципиентов низкого иммунологического риска (реципиенты, совместимые с донором по гаплотипу и по группе крови) проводится дальнейшее снижение уровня иммуносупрессии – отмена препаратов микофеноловой кислоты, назначение ингибиторов пролиферативного сигнала.

Выводы

1. Активация цитомегаловирусной инфекции в виде бессимптомной виремии выявлена у 31,3% детей после трансплантации почки. Наличие и характер цитомегаловирусной инфекции не зависели от совместимости реципиента и донора по группе крови ($p = 0,67$), совместимости по гаплотипу ($p = 0,94$) и локусу DR ($p = 0,57$); отсутствовала корреляция между числом несовпадений по антигенам главного комплекса гистосовместимости и активацией цитомегаловирусной инфекции ($r = 0,07$, $p = 0,4$). Частота эпизодов активации цитомегаловирусной инфекции в периоды 3 и 6 месяцев не зависела от применяемой стратегии профилактики. Частота рецидивов цитомегаловирусной инфекции через год после операции достоверно ниже ($p = 0,037$) при использовании Стратегии 2.
2. У реципиентов почки детского возраста, получивших противовирусную профилактику по принятым стратегиям в сроки наблюдения от 108 до 1803 ($623,5 \pm 379,5$) дней не встречались случаи цитомегаловирусного синдрома или цитомегаловирусного заболевания. Не зафиксировано ни одного случая дисфункции трансплантата или хронического отторжения, связанного с цитомегаловирусной инфекцией.
3. Повышение дозы противовирусных препаратов в рамках Стратегии 1 не увеличивает риск их цитотоксичности и нефротоксичности, которые являются обратимыми (уровень креатинина достоверно не отли-

чался в исследуемых группах в 3, 6, 12 месяцев – $p = 0,542$, $p = 0,287$, $p = 0,535$ соответственно). Частота отторжения трансплантированной почки не возрастает (случаи отсутствуют) у пациентов при снижении дозы иммунодепрессантов в рамках Стратегии 2. Это указывает на безопасность обеих применяемых стратегий профилактики цитомегаловирусной инфекции.

4. Алгоритм профилактики цитомегаловирусной инфекции у реципиентов детского возраста до и после трансплантации почки основан на выявлении дезоксирибонуклеиновой кислоты цитомегаловируса методом полимеразной цепной реакции в крови, оценке иммунологического риска реципиентов (совместимость с донором по гаплотипу и по группе крови), количестве и характеру рецидивов цитомегаловирусной инфекции, устойчивости цитомегаловирусной инфекции к лечению.

Практические рекомендации

1. Основой профилактики цитомегаловирус-ассоциированных осложнений должно быть сочетание мониторинга виремии с длительной медикаментозной профилактикой и лечением эпизодов активации цитомегаловирусной инфекции в сочетании с оптимизацией протокола проводимой иммуносупрессивной терапии.
2. Периодичность мониторинга ДНК цитомегаловируса до и в ранние сроки после трансплантации почки (госпитальный период) должна быть не реже 1 раза в неделю, в отдаленные сроки не менее 1 раза в 3 месяца.
3. В случае выявления рецидива цитомегаловирусной инфекции у реципиента до и после трансплантации почки показано назначение противовирусной терапии ганцикловиром не менее 14 дней. Эпизод лечения активной цитомегаловирусной инфекции считается завершенным после получения двух отрицательных результатов ПЦР ДНК цитомегаловируса.
4. В отдаленные сроки после трансплантации почки терапию активной цитомегаловирусной инфекции без клинических проявлений необходимо проводить с помощью валганцикловира в расчетной дозировке (двукратный прием), у реципиентов с низкими иммунологическими рисками возможно снижение уровня иммуносупрессивной терапии с последующим исследованием концентрации ингибиторов кальциневрина, креатинина и ДНК цитомегаловируса.
5. При устойчивости цитомегаловирусной инфекции к базовой терапии рекомендовано назначение двойной лечебной дозировки ганцикловира, нормального человеческого иммуноглобулина, а также снижение уровня медикаментозной иммуносупрессии.

6. Цитопения не считается показанием к отмене противовирусной терапии, так как является цитомегаловирус-опосредованным гематологическим проявлением.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Клинический случай применения терапевтического плазмообмена для лечения рецидива фокально-сегментарного гломерулосклероза у ребенка после трансплантации почки / И.А. Милосердов, В.С. Богданов, **П.М. Гаджиева**, Д.А. Сайдулаев, А.А. Карташев, Е.Г. Куликова, И.Е. Пашкова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 60–66.
2. Успешные клинические случаи реконструктивно-пластических лапароскопических операций на мочеточнике трансплантированной почки / Д.А. Сайдулаев, С.В. Садовников, Р.Г. Биктимиров, **П.М. Гаджиева**, И.А. Милосердов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 61–65.
3. Оценка эффективности протоколов профилактики цитомегаловирусной инфекции у реципиентов почки детского возраста / О.М. Цирульников, **П.М. Гаджиева**, И.А. Милосердов, Д.А. Сайдулаев, И.Е. Пашкова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 4. – С. 13–18.

Список сокращений

HLA (англ., human leukocyte antigens)

– лейкоцитарные антигены человека

ПЦР

– полимеразная цепная реакция

УЗИ

– ультразвуковое исследование

ФГБУ «НМИЦ ТИО

им. ак. В.И. Шумакова»

Минздрава России

– Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ХБП

– хроническая болезнь почек

ЦМВ

– цитомегаловирус

ЦМВ-заболевание

– цитомегаловирусное заболевание

ЦМВ-инфекция

– цитомегаловирусная инфекция

НОРМОТЕРМИЧЕСКАЯ МАШИННАЯ EX VIVO ПЕРФУЗИЯ ДОНОРСКИХ ЛЕГКИХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Грудинин Н.В., Готье С.В.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Первая успешная трансплантация легких была проведена более 30 лет назад и по сей день является единственным методом лечения терминальных стадий легочных заболеваний, позволяющим увеличить выживаемость и улучшить качество жизни пациентов. Достижения в области консервации донорских легких, совершенствование хирургической техники, развитие перфузиологии и появление оптимальных схем иммуносупрессивной терапии позволили сделать трансплантацию легких высокоэффективной и безопасной операцией. По данным Международного общества трансплантации сердца и легких, в мире выполняется более 3500 тысяч трансплантаций легких в год (Yusen R.D. et al.). В среднем отвергается около 70% потенциальных легочных трансплантатов ввиду их непригодности к трансплантации, и всего лишь 20–30% пригодны к пересадке (Pan. X. et al.). Это связано с гемодинамическими нарушениями, сердечно-легочной реанимацией и др. причинами смерти головного мозга у посмертного донора, что отражаются на качестве легких как донорского органа. Функциональные возможности легких от субоптимальных доноров могут быть существенно улучшены в ходе проведения аппаратной экстракорпоральной перфузии донорских легких (нормотермическая перфузия донорских легких *ex vivo*) до уровня оптимальных значений показателей газообмена.

Появление технологии нормотермической перфузии донорских легких *ex vivo* открыло новые горизонты в развитии трансплантации легких. В 2006 году исследовательская команда Stig Steen et al. (Лунд, Швеция) доложила первые результаты успешной трансплантации одного легкого после процедуры нормотермической аппаратной перфузии *ex vivo*. В 2009 году Cypel et al. (Торонто, Канада) представили собственный протокол, позволивший проведение длительной перфузии (Pan. X. et al., Yeung J.C. et al.).

Использование процедуры экстракорпоральной перфузии легких (*ex vivo* lung perfusion – EVLP) – перспективное направление развития трансплантации легких, позволяющее расширить критерии эффективности донора и увеличить количество трансплантаций в несколько раз. Процедура EVLP позволяет поддерживать жизнеспособность легких в физиологических условиях, позволяя легочной паренхиме находиться в метаболически активном состоянии по сравнению со статическим гипотермическим хранением.

Нормотермическая перфузия легких позволяет справиться с проявлениями нейрогенного отека легочной паренхимы, ателектазами большого объема, а также дает возможность реабилитировать легочный трансплантат от донора с остановкой эффективного кровообращения, считавшегося ранее абсолютно не пригодным для трансплантации.

Степень разработанности темы исследования

В современной трансплантологической практике технология нормотермической машинной перфузии донорских легких применяется далеко не везде, где практикуется пересадка легких. Отсутствует информация, отражающая в полной мере концепцию, подходы и возможности использования *ex vivo* перфузии как метода реабилитации и оценки легких от субоптимальных доноров. В отечественной медицинской литературе отсутствуют методические рекомендации, регламентирующие методику и протоколы применения данной технологии с целью увеличения количества пригодных к трансплантации доноров. Учитывая ограниченный опыт использования в клинической практике данной технологии, разработка этих вопросов и адаптация их решений к клиническим условиям является актуальной научно-исследовательской задачей. Все это определяет актуальность разработки и апробации протокола перфузии, а также перфузионной среды.

Цель исследования

Оптимизация методики и расширение возможностей изолированной нормотермической *ex vivo* перфузии донорских легких для последующей трансплантации.

Задачи исследования

1. Разработать протокол перфузии и провести серию экспериментов по апробации методики.
2. Разработать перфузионный раствор для нормотермической *ex vivo* перфузии изолированных легких.
3. Разработать аппаратный комплекс на основе общедоступного перфузиологического и анестезиологического оборудования для проведе-

ния изолированной нормотермической аппаратной *ex vivo* перфузии легких в условиях эксперимента.

4. Провести анализ функциональной и морфологической сохранности изолированных легких после машинной перфузии разработанным перфузионным раствором.

Научная новизна

Изучена возможность нормотермической *ex vivo* перфузии изолированных легких экспериментального животного с целью функциональной реабилитации и последующей трансплантации. Для этого разработана оригинальная перфузионная среда на основе альбумина человека, показавшая свою эффективность и безопасность. Обоснованы преимущества использования взвеси эритроцитов как компонента перфузионной среды. Изучены физиологические и морфологические маркеры, отражающие функциональные параметры перфузируемых легких. Отработаны режимы перфузии, направленные на стабилизацию клеточных мембран перфузируемых легких.

Практическая значимость исследования

Практическая значимость исследования определяется созданием предпосылок для внедрения в клиническую практику нормотермической машинной *ex vivo* перфузии донорских легких с использованием оригинальной методики и перфузионной среды для оценки и реабилитации субоптимальных и маргинальных донорских органов, с целью увеличения количества выполненных операций по трансплантации легких.

Методология и методы диссертационного исследования

В исследовании использовали самцов баранов Романовской породы массой 50 кг. Программа экспериментов была одобрена комитетом по биологической безопасности и биоэтике. Выполнена серия экспериментов на 30 изолированных легких, разделенная на 2 группы: контрольная группа (собственный перфузионный раствор) и экспериментальная группа (Steen SolutionTM). Всего проведено 30 процедур EVLP по разработанному протоколу. В работе использовались инструментальные, лабораторные, морфологические и статистические методы исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработанная методика и протокол перфузии с использованием нового перфузионного раствора позволяют сохранять жизнеспособность и улучшать качество легочного трансплантата.

2. Предложенный оригинальный перфузионный раствор сопоставим по эффективности с оригинальным раствором для нормотермической перфузии легких.
3. Созданная перфузионная система позволяет оптимизировать и эффективно проводить *ex vivo* перфузию изолированных легких в условиях нормотермии с использованием перфузиологического оборудования.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечена достаточным объемом экспериментальных исследований (30 процедур нормотермической *ex vivo* перфузии) с использованием инструментальных, лабораторных и морфологических методов исследования, анализа, современных методов статистической обработки данных.

Апробация работы состоялась 7 октября 2021 года на объединенной конференции научных, клинических отделений и лаборатории Федерального бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова), кафедры трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет) (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова).

Основные результаты работы доложены и обсуждены на X международном конгрессе «Актуальные направления современной кардио-торакальной хирургии» (Санкт-Петербург 17–19 июня 2021 г.), V Российском конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва 27–29 сентября 2021 г.).

Внедрение в практику

Материалы и результаты и экспериментального исследования внедрены в учебно-методическую работу на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет) (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 3 научные работы, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 статья в журнале, индексируемом в международных базах данных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования

В данном исследовании использовали самцов баранов Романовской породы массой 45–50 кг. Программа экспериментов была одобрена комитетом по биологической безопасности и биоэтике. Опыты проводились с соблюдением правил Европейской конвенции по обращению с лабораторными животными и директивы 2010/63/EU. Животных содержали в стандартных загонах с обеспечением воды *ad libitum* в условиях 12-часового цикла дня и ночи.

Дизайн исследования подразумевал две серии экспериментов: 1-я группа (эксперимент) – легкие баранов, получавшие перфузию раствором собственной разработки ($n = 15$), 2-я группа (контроль) – легкие баранов, получавшие перфузию раствором Steen Solution™ ($n = 15$). Функциональная способность легких оценивалась по следующим параметрам: индекс оксигенации, динамический комплаенс, легочное сосудистое сопротивление, гистологические изменения.

Подготовка к эксперименту заключалась в изъятии легких у донора-барана согласно общепринятому протоколу эксплантации легких, сборки экстракорпорального контура к процедуре нормотермической *ex vivo* перфузии. Эксперимент включал в себя гипотермическое хранение изолированных легких и непосредственно проведение нормотермической *ex vivo* перфузии, с оценкой показателей газообмена, гемодинамики и вентиляции в контрольных временных точках.

Приготовление перфузионного раствора

Объем перфузата на первичное заполнение и на первый час процедуры EVLP во всех наблюдениях составлял около 2000 мл. Эритроцитарная масса заготавливалась путем центрифугирования цельной крови донора в течение 15 минут со скоростью 3500 оборотов в минуту. Полученные эритроциты добавляли к раствору до целевых значений гематокрита 10–15%. В перфузат добавляли Импипенем 500 мг, гепарин 10 000 МЕ и метил-

преднизолон 1 г, натрия гидрокарбонат 8,4%. Целевой уровень рН перфузата составлял 7,35–7,45, коррекцию осуществляли добавлением 8,4% натрия гидрокарбоната. Раствор смешивали в кардиотомном резервуаре в условиях замкнутого контура и постоянной рециркуляции со скоростью 200 мл/мин, температура перфузата составляла 15 °С.

Все компоненты раствора смешивали в стерильной емкости, целевые цифры рН 7,4–7,5 и показатель осмолярности 285–310 мОсм/л. Готовый раствор заливали в кардиотомный резервуар и добавляли эритроцитарную массу до гематокрита 10–15%. Перфузионная среда считалась готовой после достижения целевых показателей рН, осмолярности и гематокрита.

Устройство перфузионного контура

Перфузионная система включает в себя последовательно соединенные между собой органый резервуар открытого типа, кардиотомный резервуар, насос, оксигенатор с теплообменником и интегрированным фильтром, выход которого связан с портом венозной магистрали (рис. 1, пояснение в тексте).

Сборка контура осуществляется следующим образом. На дооперационном этапе в операционной с соблюдением правил асептики и антисептики проводят сборку одноразовых систем физиологического блока, обеспечивающего проведение искусственного кровообращения и контура, обеспечивающего гемоконцентрацию, который включает в себя кардиотомный резервуар, роликовый насос, оксигенатор с интегрированным фильтром и теплообменником, датчик давления, подключенный к венозной магистрали, а также гемоконцентратор.

Сборку кардиотомного резервуара и оксигенатора производят с помощью набора стерильных магистралей, поставляемых вместе с физиологическим блоком для искусственного кровообращения. Артериальная кровь из донорских легких, находящихся в органном резервуаре открытого типа (1), имеющего в нижней части порт выхода 3/8, вытекает и концентрируется в нем, затем через артериальную магистраль (2), соединенную с портом органного резервуара, попадает в кардиотомный резервуар (3) и с помощью первого насоса (4) нагнетается в оксигенатор (5). К оксигенатору подается деоксигенированная газовая смесь (12) через ротаметр. После оксигенатора (5) по отводящей от него венозной магистрали (6), в которую установлен первый датчик давления (7) венозной магистрали, представленный переходником 3/8-3/8 с люэр-портом и линией для измерения давления, венозная магистраль (6) соединяется с прямой армированной канюлей 24Fr через переходник 3/8-3/8 с люэр-портом 8, таким образом деоксигенированная кровь поступает в легочную артерию. Предложенная система имеет возможность подключения гемоконцентратора. Температурная регуляция изолированных легких осуществляется с помощью

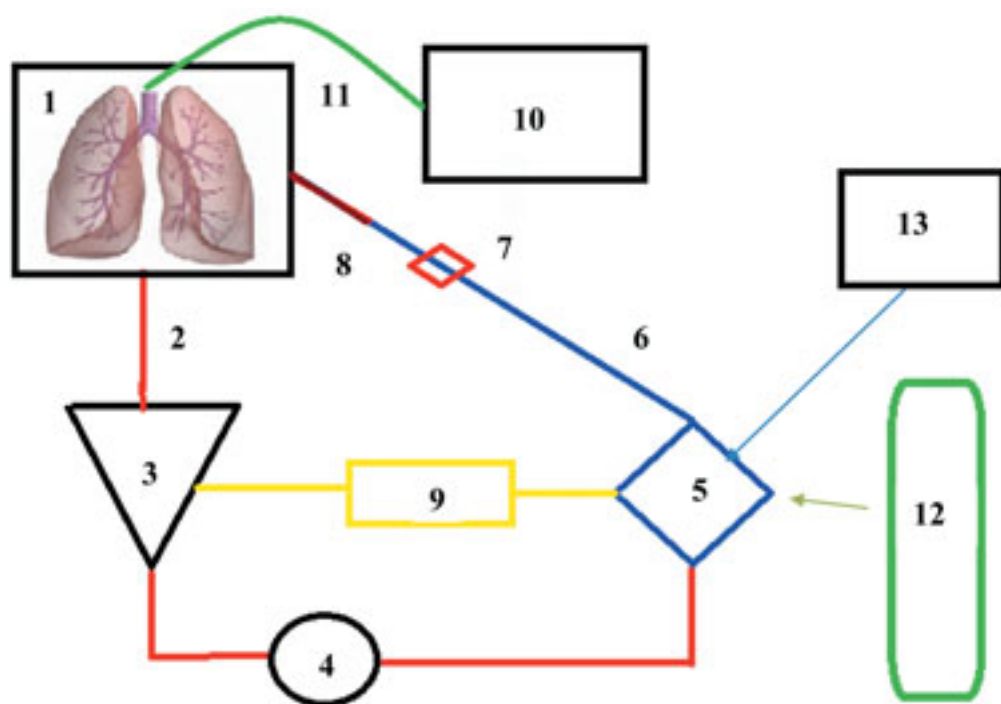


Рис. 1. Перфузионный контур для нормотермической перфузии легких. На схеме представлена система для нормотермической изолированной перфузии легких, состоящая из следующих компонентов: 1 – органный резервуар открытого типа; 2 – артериальная магистраль; 3 – кардиотомный резервуар; 4 – насос; 5 – оксигенатор с интегрированным артериальным фильтром и теплообменником; 6 – венозная магистраль; 7 – датчик давления (венозной магистрали); 8 – канюля 24Fr с переходником 3/8-3/8 с люэр-портом; 9 – гемоконцентратор; 10 – аппарат ИВЛ; 11 – контур аппарата ИВЛ; 12 – баллон с деоксигенирующей смесью; 13 – терморегулирующее устройство, соединенное с теплообменником, интегрированным в оксигенатор

терморегулирующего устройства (13), подключенного к теплообменнику, интегрированному в оксигенатор (5).

Датчики температуры встроены в кардиотомный резервуар (3) на входе и оксигенатор (5) на выходе. Общий вид перфузионного комплекса представлен на рис. 2.

На рисунке представлен перфузионный комплекс, собранный на основе стандартного аппарата искусственного кровообращения, задействован один роликовый насос для перфузии и циркуляции перфузата по линии для проведения гемоконцентрации.



Рис. 2. Общий вид собранного перфузионного контура

Анализ гемодинамики и газового состава перфузата

На протяжении всего периода перфузии путем прямого измерения оценивалось давление в легочной артерии. Данные отображались на мониторе в режиме реального времени и фиксировались каждые 30 минут. Основными параметрами являлись: давление в легочной артерии (РАР мм.рт.ст) и легочное сосудистое сопротивление (PVR Wood/м²).

Легочное сосудистое сопротивление рассчитывали по формуле:

$$PVR = \frac{PAP - LAP}{PaF}, \quad (1)$$

где PVR – легочное сосудистое сопротивление; PAP – давление в легочной артерии (mmHg); LAP – давление в левом предсердии (mm Hg); PaF – объем перфузии (L/min).

PVR выражалось в единицах Wood, для расчета в единицах Dynes·s/cm⁵ результат уравнения умножали на 80. Так как во всех группах нормотермическая перфузия осуществлялась открытым способом, без канюляции левого предсердия, при расчете легочного сосудистого сопротивления давление в левом предсердии принимали за 0.

С целью анализа оксигенирующей функции легких отбирали две порции крови из венозной канюли (легочная артерия) и артериальной (левое

предсердие). Анализ образцов проводили на газоанализаторе крови Abl 800 (Radiometer Medical ApS, Дания). Используя уравнение $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ (отношение парциального напряжения кислорода в крови к фракции кислорода на вдохе) для расчета индекса оксигенации. Полученные данные были перенесены на график в зависимости от временных точек, соответствующих периодам оценки трансплантата. По завершении перфузии все трансплантаты подвергались морфологическому исследованию.

Методы статистической обработки данных

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием лицензионной программы SAS Enterprise Guide 9.4. Все показатели проверялись на соответствие нормальному распределению (критерии Колмогорова, Шапиро–Уилка). В случае нормального распределения применялись методы параметрической статистики. В случае распределения, отличающегося от нормального, – методы непараметрической статистики. Сравнение групп по показателям (индекс оксигенации, динамический комплаенс, легочное сосудистое сопротивление, давление в легочной артерии) выполнялось с использованием теста Краскела–Уоллиса. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Диаграммы размаха были построены в программе SAS Enterprise Guide 9.4.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Протокол нормотермической *ex vivo* перфузии

Легкие помещали в органный контейнер открытого типа в прониракованном положении для улучшения оттока от базальных сегментов легкого. Исходная температура перфузата составляла 15 °C, что соответствовало пороговым значениям возникновения ишемически-реперфузионных повреждений при использовании статической холодной кристаллоидной консервации. Заполненную перфузионную линию соединяли с канюлей легочной артерии, медленно подавали раствор для заполнения и деаэрации канюли.

После соединения перфузионной линии с канюлей легочной артерии начинали перфузию со скоростью 200 мл/мин, так как данные параметры скорости перфузии являются оптимальными для начала перфузии, предотвращая микроциркуляторное гидродинамическое повреждение, в этот момент обнуляли датчики давления в магистрале.

Ориентируясь на давление в легочной артерии, которое не должно было превышать 20 мм рт. ст., постепенно увеличивали производительность насоса на 200–300 мл каждые 10 минут, параллельно согревая перфузат. С начала перфузии устанавливали поток газо-воздушной смеси, где $\text{FiO}_2 < 0,5$, соответствовал целевым минимальным значениям pO_2 100 mmHg. Оптимальная скорость газовойоздушной смеси с высоким содержанием углекис-

лого газа равнялась значениям перфузионной скорости потока раствора в экстракорпоральном контуре и корректировалась, соответствуя показателям $p\text{CO}_2$ и $p\text{O}_2$ в газовом составе перфузата во время контрольных измерений.

По достижении температуры перфузата до 34°C начинали искусственную вентиляцию легких с применением протективных параметров вентиляции, обеспечивая минимальный минутный объем вентиляции и положительного давления на вдохе, которые коррелировались с показателями легочного сопротивления, динамического комплаенса и потока, что обеспечивало предотвращение ИВЛ-ассоциированного повреждения паренхимы легочной ткани. По мере роста производительности насоса достигался расчетный объем перфузии, 100% от сердечного выброса, который в среднем составлял 1800–2000 мл/мин. Параметры защитной вентиляции складывались из объема на вдохе от 6 до 8 мл/кг, положительное давление конца выдоха (ПДКВ) составляло 5 см вод. ст., частота дыхательных движений (ЧДД) – 10/мин.

Основной целью протективной ИВЛ являлась оптимизация объема и давления в дыхательных путях без повреждения ателектазированных участков альвеол. Маневр рекрутмента¹ проводился не чаще одного раза в 10 минут для предотвращения ИВЛ-ассоциированного и механического повреждения трансплантата. На протяжении всей перфузии с целью коррекции онкотического давления перфузата использовали дополнительную линию со встроенным гемоконцентратором. Параметры перфузии и вентиляции представлены в табл. 1.

Таблица 1

Параметры перфузии и вентиляции

Параметры	Экспериментальная группа (группа 1)	Контрольная группа (группа 2)
Объем перфузии	100% от сердечного выброса	100% от сердечного выброса
Время достижения 37°C	30 минут	30 минут
Время холодовой ишемии	240±18	240±15
Левое предсердие	Открыто	Открыто
Температура начала вентиляции	$32\pm 0,5^\circ\text{C}$	$32\pm 0,5^\circ\text{C}$
ПДКВ	5 см H_2O	5 см H_2O
Объем на вдохе	6–8 мл/кг	6–8 мл/кг
ЧДД	10/мин	10/мин
FiO_2	50%	50%
Время перфузии	180 минут	180 минут

Примечание. ПДКВ – положительное давление конца выдоха (см вод. ст.); ЧДД – частота дыхательных движений; FiO_2 (%) – фракция кислорода.

¹ Маневр рекрутмента – преднамеренный динамический процесс временного повышения транспульмонального давления, целью которого является открытие нестабильных безвоздушных альвеол.

Анализ газов крови

В экспериментальной группе (группа № 1) показатели индекса оксигенации $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ составил 340 [310–370] мм рт. ст. против 380 [350–400] мм рт. ст. в группе контроля. Спустя тридцать минут с момента первой оценке в точке 2 в экспериментальной группе показатель $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ составил 380 [360–410] мм рт. ст., по сравнению с 450 [410–480] мм рт. ст. в контрольной группе. Отмечается положительная динамика роста респираторного индекса, превысившая пороговое значение в 350 мм рт. ст., что свидетельствует о хорошей оксигенирующей функции легочного трансплантата.

Спустя два часа перфузии в 3-й контрольной точке показатель $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ в первой группе составил 400 [370–430] против 460 [430–490] мм рт. ст. Данные значения индекса оксигенации говорят о физиологическом восстановлении легочной ткани и свидетельствуют об эффективности перфузии. В 4-й контрольной точке показатель $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ в экспериментальной группе составил 400 [380–420] мм рт. ст., в группе сравнения индекс оксигенации составил 460 [450–500] мм рт. ст.

По завершении перфузии в 5-й контрольной точке показатель $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ в экспериментальной группе составил 390 [380–410] мм рт. ст., что говорит об оптимальном функциональном состоянии легких и их готовности к трансплантации. Контрольная группа также показала хорошее функциональное состояние трансплантата. Однако респираторный индекс в контрольной группе был более высоким и составил 470 [430–500] мм рт. ст. Показатели индекса оксигенации после восстановления трансплантата спустя 60 минут перфузии представлены на рис. 3.

Показатели индекса оксигенации в контрольных точках в обеих группах представлены в табл. 2.

Таблица 2

Основные показатели индекса оксигенации

Показатель	Точка контроля	Группа 1 (экспериментальная)	Группа 2 (контрольная)	p
$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	1	340 [310–370]	380 [350–400]	0,0059
	2	380 [350–410]	450 [410–480]	0,0004
	3	400 [370–430]	460 [430–490]	0,00013
	4	400 [380–420]	460 [450–500]	0,0001
	5	390 [380–410]	470 [430–500]	0,0002

Примечание. $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ – индекс оксигенации, точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Показатели представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (указаны в квадратных скобках). Сравнение показателей выполнялось с помощью теста Красскелла–Уоллиса, различия считаются статистически значимыми при $p < 0,05$.

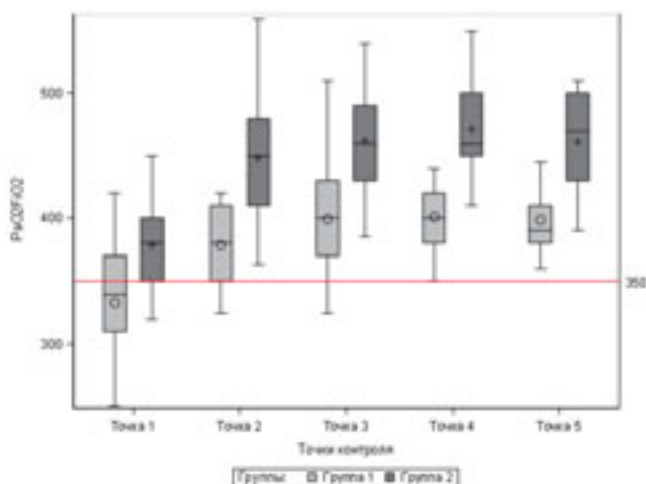


Рис. 3. Показатели индекса оксигенации: PaO_2/FiO_2 – индекс оксигенации, точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Кружками и крестиками обозначены медианы, горизонтальными линиями в прямоугольниках обозначены средние значения. Горизонтальная линия $PaO_2/FiO_2 = 350$ обозначает порог, превышение которого означает пригодность трансплантата к пересадке. Группа 1 – экспериментальная, группа 2 – контрольная

Динамический комплаенс

В экспериментальной группе после периода восстановления (точка контроля № 1) показатели динамического комплаенса составили 18 [16–18] мм рт. ст., в контрольной группе показатель комплаенса составил 16 [16–18] мм рт. ст. Спустя 30 минут перфузии (точка 2) в 1-й группе показатель динамического комплаенса составил 27 [25–28] см вод. ст. против 27 [25–28] см вод. ст. контрольной группы. В обеих группах наблюдается положительная динамика прироста показателей динамического комплаенса.

В контрольной точке 3, соответствующей 120-й минуте перфузии, отмечается положительный рост показателей комплаенса в обеих группах, который составил в экспериментальной группе 30 [28–32] см вод. ст. против 32 [29–32] см вод. ст. В четвертой временной точке показатели комплаенса находились без изменений и составляли в экспериментальной группе 30 [27–34] см вод. ст. против 30 [30–32] см вод. ст. в контрольной группе.

Увеличение динамического комплаенса легочного трансплантата свидетельствует о потенциальной рекрутабельности органа и компенсации ишемически-реперфузионных повреждений, вызванных статической кристаллоидной консервацией.

В точке 5 отмечается рост показателей комплаенса в 1-й группе, составившего 36 [32–40] см вод. ст., по сравнению со 2-й группой – 29 [28–31] см вод. ст. (рис. 4).

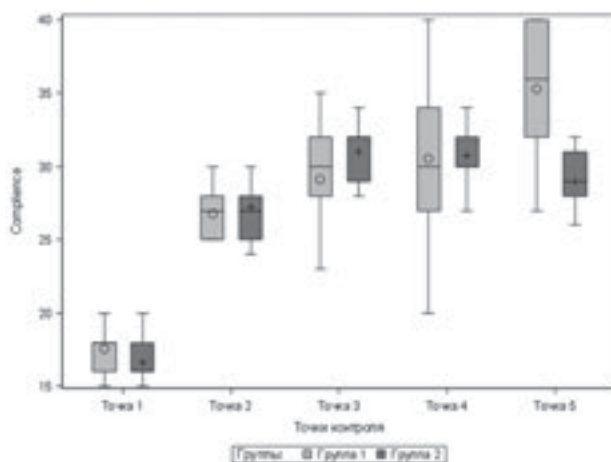


Рис. 4. Показатели комплаенса в группах сравнения:
Compliance – динамический комплаенс, точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Кругжками и крестиками обозначены медианы, горизонтальными линиями в прямоугольниках обозначены средние значения. Р – показатель статистической значимости.
 Группа 1 – экспериментальная, группа 2 – контрольная

Показатели динамического комплаенса в контрольных точках контрольной и экспериментальной группы представлены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели динамического комплаенса

Показатель	Точка контроля	Группа 1 (экспериментальная)	Группа 2 (контрольная)	р
Compliance	1	18 [16–18]	16 [16–18]	0,19
	2	27 [25–28]	27 [25–28]	0,9
	3	30 [28–32]	32 [29–32]	0,3
	4	30 [27–34]	30 [30–32]	0,8
	5	36 [32–40]	29 [28–31]	0,0007

Примечание. Compliance – динамический комплаенс, точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 минут перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Р – показатель статистической значимости. Показатели представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (указаны в квадратных скобках). Сравнение показателей выполнялось с помощью теста Краскелла–Уоллиса, различия считаются статистически значимыми при $p < 0,05$.

Анализ гемодинамики

Динамика изменений легочного сосудистого сопротивления

В экспериментальной группе в точке контроля № 1 легочное сосудистое сопротивление составило 10 [9–11] Wood/ m^2 , в группе сравнения показатель легочного сосудистого сопротивления составил 9 [8–10] Wood/ m^2 . В точке 2 отмечается динамика к снижению легочного сосудистого сопротивления, которое составило в экспериментальной группе 9 [8,8–10] Wood/ m^2 против 8 [7,7–8,5] Wood/ m^2 в контрольной группе. Спустя два часа перфузии прослеживается тенденция к снижению легочного сосудистого сопротивления: в 1-й группе 8,8 [7,3–9] Wood/ m^2 против 7,5 [6,5–8,0] в контрольной группе. В точке 4 легочное сосудистое сопротивление в экспериментальной группе составило 7,7 [6,5–8,3] Wood/ m^2 против 6,5 [6,0–7,5] Wood/ m^2 в контрольной группе. В точке 5, соответствующей трем часам перфузии, показатель легочного сосудистого сопротивления в первой группе остался без изменений и составил 7,6 [6,0–8,3] Wood/ m^2 , в контрольной группе прослеживалась динамика к его снижению и составила 5,5 [5–6,1] мм рт. ст. Показатели легочного сосудистого сопротивления представлены на рис. 5.

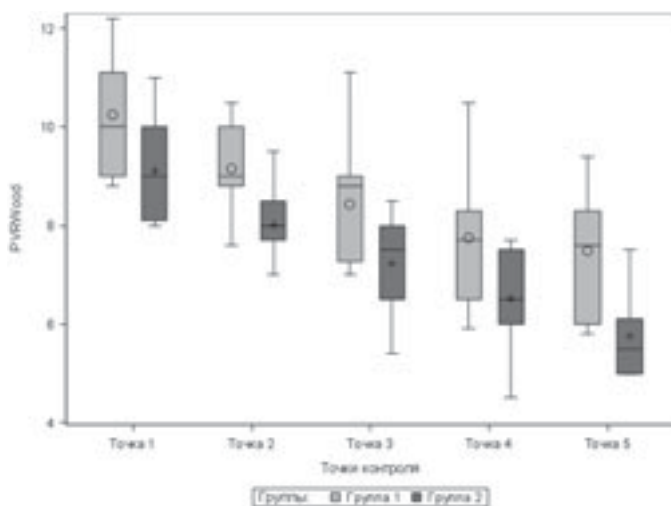


Рис. 5. Легочное сосудистое сопротивление во время перфузии эксплантата экспериментальным раствором и раствором Стина: PVR – легочное сосудистое сопротивление, измеряемое Wood/ m^2 ; точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Кружками и крестиками обозначены медианы, горизонтальными линиями в прямоугольниках обозначены средние значения. Группа 1 – экспериментальная, группа 2 – контрольная

Показатели легочного сосудистого сопротивления в контрольных точках контрольной и экспериментальной группы представлены в табл. 4.

Таблица 4

Значения легочного сосудистого сопротивления

Показатель	Точка контроля	Группа 1 (экспериментальная)	Группа 2 (контрольная)	Р
PVRWood	1	10 [9–11]	9 [8,1–10]	0,0095
	2	9 [8,8–10]	8 [7,7–8,5]	0,0016
	3	8,8 [7,3–9,0]	7,5 [6,5–8,0]	0,01
	4	7,7 [6,5–8,3]	6,5 [6,0–7,5]	0,01
	5	7,6 [6,0–8,3]	5,5 [5,0–6,1]	0,0007

Примечание. PVR – легочное сосудистое сопротивление, измеряемое Wood/m²; точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Р – показатель статистической значимости. Показатели представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (указаны в квадратных скобках). Сравнение показателей выполнялось с помощью теста Краскелла–Уоллиса, различия считаются статистически значимыми при $p < 0,05$.

Показатели изменений давления в легочной артерии

В ходе всего периода перфузии трансплантата в двух группах наблюдения отмечалось стойкое снижение давления в легочной артерии. В экспериментальной группе в точке контроля № 1 показатель давления в легочной артерии составил 20 [18–20] мм рт. ст., в группе 2 показатель легочного сосудистого сопротивления составил 18 [16–19] мм рт. ст. В точке 2 прослеживается динамика к снижению показателей давления в легочной артерии, которое составило в 1-й группе 18 [16–18] мм рт. ст. против 16 [15–16] мм рт. ст. в группе контроля. Спустя 2 часа перфузии, соответствующей 3-й временной точке, прослеживается тенденция к снижению давления в легочной артерии: в экспериментальной группе (группа 1) 16 [15–18] мм рт. ст. против 15 [13–16] мм рт. ст. в контрольной группе. В точке 4 значение давления в легочной артерии в 1-й группе составило 15 [13–15] мм рт. ст. против 11 [10–12] мм рт. ст. во второй группе. В точке 5 показатель давления в легочной артерии в первой группе составил 14 [13–15] мм рт. ст., против 11 [10–12] мм рт. ст. во второй группе. Показатели изменений давления в легочной артерии представлены на рис. 6.

В двух группах прослеживается динамика снижения давления легочной артерии, при этом показатели в 1-й группе статистически значимо уступают второй группе, представленной раствором Стина. Однако несмотря на различия, клинически снижение показателей давления легочной артерии в обеих группах говорит об адекватности и стабильности

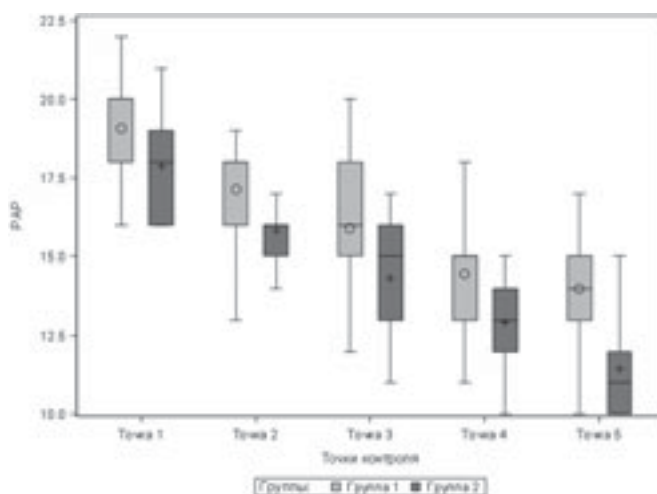


Рис. 6. Показатели давления в легочной артерии:
 PAP – легочное сосудистое сопротивление, измеряемое в мм рт. ст.,
 точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 –
 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин,
 конец перфузии. Кружками и крестиками обозначены медианы,
 горизонтальными линиями в прямоугольниках обозначены
 средние значения. Группа 1 – экспериментальная,
 группа 2 – контрольная

процедуры нормотермической перфузии легких и служит объективным прогностическим признаком стабильной и эффективной перфузии (табл. 5).

Таблица 5

Показатели давления в легочной артерии

Показатель	Точка контроля	Группа 1 экспериментальная	Группа 2 контрольная	р
PAP	1	20 [18–20]	18 [16–19]	0,06
	2	18 [16–18]	16 [15–16]	0,016
	3	16 [15–18]	15 [13–16]	0,049
	4	15 [13–15]	13 [12–14]	0,02
	5	14 [13–15]	11 [10–12]	0,0008

Примечание. PAP – давление в легочной артерии, измеряемое в мм рт. ст., точка 1 – 60 мин перфузии, точка 2 – 90 мин перфузии, точка 3 – 120 мин перфузии, точка 4 – 150 мин перфузии, точка 5 – 180 мин, конец перфузии. Р – показатель статистической значимости. Показатели представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (указаны в квадратных скобках). Сравнение показателей выполнялось с помощью теста Краскелла–Уоллиса, различия считаются статистически значимыми при $p < 0,05$.

Анализ показателей корреляции индекса оксигенации с легочным сосудистым сопротивлением и динамическим комплаенсом

В ходе исследования была оценена корреляция показателей $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ и легочного сосудистого сопротивления, а также комплаенса. Показатели корреляции представлены в табл. 6.

Таблица 6

Корреляционная связь между показателями $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, легочным сосудистым сопротивлением и комплаенсом

Группа	Показатель	Показатель	r	95% ДИ	p
1	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	Compliance	0,4	0,2–0,6	0,004
2	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	Compliance	0,5	0,3–0,7	0,0001
1	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	PAP	–0,5	–0,7..–0,3	0,0001
2	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	PAP	–0,5	–0,5..–0,3	0,0001
1	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	PVRDeen	–0,5	–0,6..–0,2	0,0001
2	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	PVRDeen	–0,4	–0,6..–0,2	0,0001
1	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	PVRWood	–0,5	–0,6..–0,3	0,0001
2	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$	PVRWood	–0,4	–0,6..–0,2	0,0001

Примечание. Группа 1 – экспериментальная, группа 2 – контрольная. Compliance – динамический комплаенс, PAP – давление в легочной артерии, PVRDeen – легочное сосудистое сопротивление, измеряемое в Deen $\times$ с/см⁵, PVRWood – легочное сосудистое сопротивление, измеряемое в Wood/м², r – коэффициент корреляции, 95% ДИ – 95% доверительный интервал, p – показатель статистической значимости.

Учитывая наличие корреляционной связи между $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, показателями легочного сосудистого сопротивления и динамического комплаенса, были построены регрессионные зависимости, которые позволяют оценить индекс оксигенации по измеряемым показателям (рис. 7–10).

Индекс оксигенации определяли в течение всего времени машинной перфузии трансплантата, что позволило определять жизнеспособность и функцию изолированных легких во время перфузии. Полученные данные позволяют определять предполагаемую оксигенирующую функцию легочного трансплантата в течение всего периода машинной перфузии по показателям гемодинамики (легочное сосудистое сопротивление). Это позволяет получать данные в реальном времени. Несомненно, эта возможность носит вспомогательную функцию и не может заменить газоанализатор при определении респираторного индекса. Однако данный подход упростит оценку при транспортировке легких в условиях нормотермической перфузии.

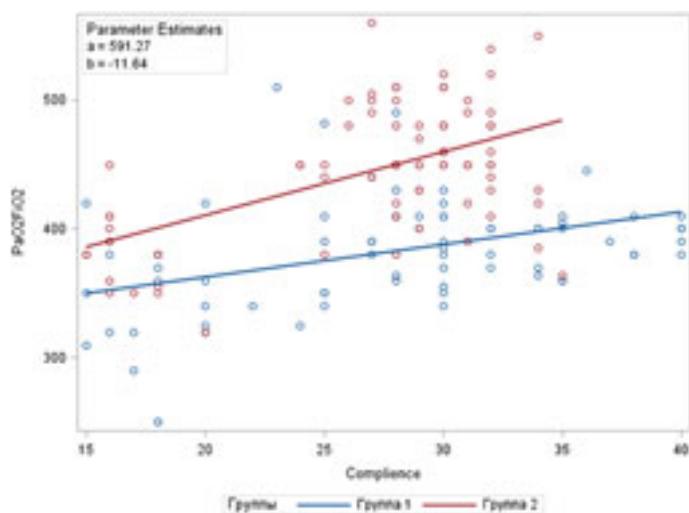


Рис. 7. Зависимость индекса оксигенации ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, мм. рт. ст.) от динамического комплаенса (Compliance, см вод. ст.).

Parameter Estimates – коэффициенты уравнения линейной регрессии $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 = a + b \cdot \text{Compliance}$. a – свободный член, b – множитель.
Коэффициенты уравнения линейной регрессии статистически значимы
 $p_a = 0,0001$, $p_b = 0,0001$

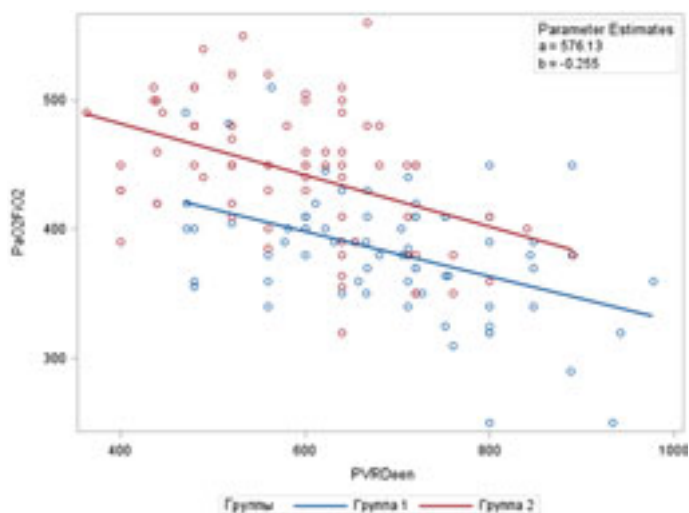


Рис. 8. Зависимость индекса оксигенации ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, мм рт. ст.) от легочного сосудистого сопротивления (PVR Deen).

Parameter Estimates – коэффициенты уравнения линейной регрессии $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 = a + b \cdot \text{PVR Deen}$. a – свободный член, b – множитель.
Коэффициенты уравнения линейной регрессии статистически значимы
 $p_a = 0,0001$, $p_b = 0,0001$

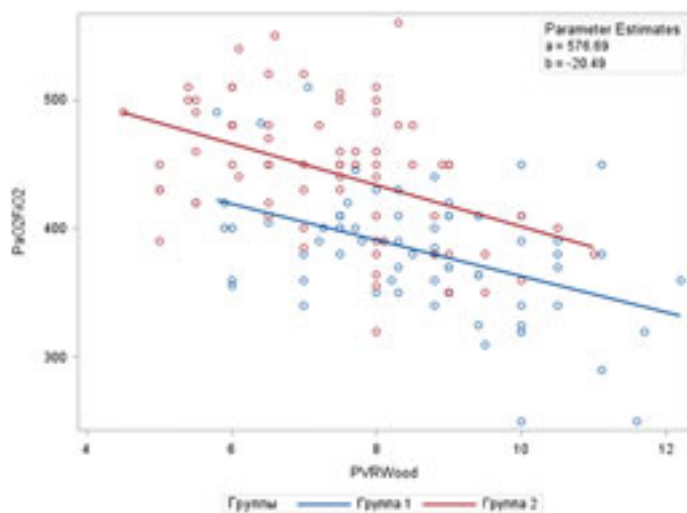


Рис. 9. Зависимость индекса оксигенации ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, мм рт. ст.) от легочного сосудистого сопротивления (PVR Wood).

Parameter Estimates – коэффициенты уравнения линейной регрессии $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 = a + b \cdot \text{PVRWood}$. a – свободный член, b – множитель.
Коэффициенты уравнения линейной регрессии статистически значимы
 $p_a = 0,0001$, $p_b = 0,0001$

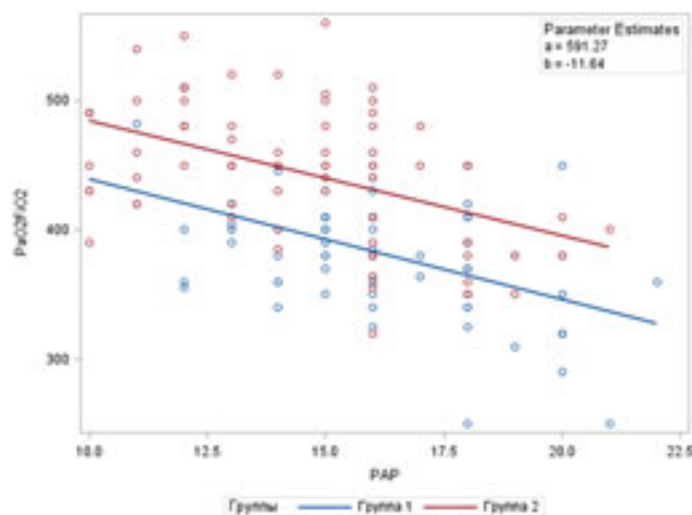


Рис. 10. Зависимость индекса оксигенации ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, мм рт. ст.) от давления в легочной артерии (PAP, мм рт. ст.).

Parameter Estimates – коэффициенты уравнения линейной регрессии $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 = a + b \cdot \text{PVRPAP}$. a – свободный член, b – множитель.
Коэффициенты уравнения линейной регрессии статистически значимы
 $p_a = 0,0001$, $p_b = 0,0001$

Морфологические исследования

При гистологическом исследовании использовалась оценка, основанная на полуколичественном анализе изменений, наблюдаемых при обычной световой микроскопии.

В обеих группах паренхима легкого имела гистологические признаки функционирующей ткани без патологических изменений. В большинстве срезов отмечались хорошо раздутые альвеолы. Микроателектатические участки были распределены неоднородно в обеих группах и встречались только на отдельных участках. Умеренная интерстициальная инфильтрация отмечалась в нескольких образцах. Не было выявлено очевидной разницы в микроструктуре легочной паренхимы в сравниваемых группах, в связи с чем статистический анализ провести не представлялось возможным (рис. 11, 12).

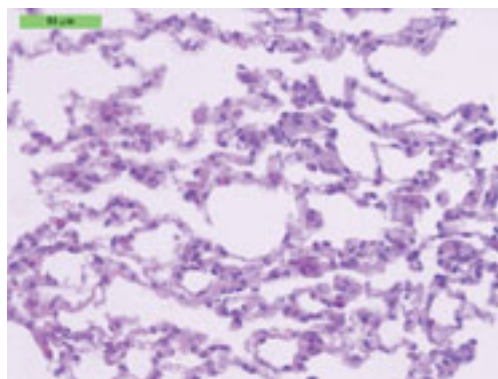


Рис. 11. Экспериментальная группа, прослеживается сохранность структур легочной ткани, отмечаются слабые явления субэндотелиального отека

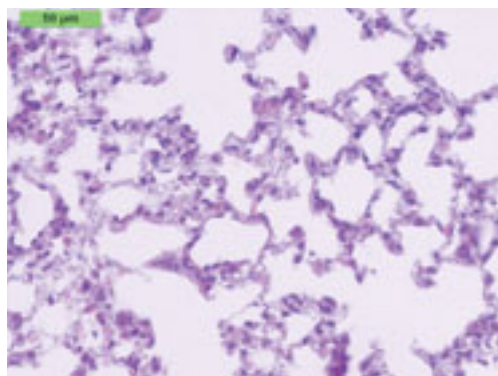


Рис. 12. Контрольная группа, отмечается слабо выраженный субэндотелиальный отек, несколько участков разрывов альвеолярной перегородки

В группах сравнения отмечалась одинаковая степень повреждения тканей после холодовой ишемии и по окончании перфузии, что может говорить об эффективности разработанного раствора, которая сопоставима с эффективностью Steen SolutionTM.

Выводы

1. *Ex vivo* перфузия легких в эксперименте с использованием разработанного протокола *ex vivo* перфузии легких с открытым перфузионным контуром обеспечивает физиологические показатели вентиляции и гемодинамики.
2. Разработанный состав перфузионного раствора для проведения нормотермической перфузии изолированных легких с целью их сохранения и реабилитации обеспечивает положительную динамику роста индекса оксигенации ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ более 350 мм рт. ст.), снижение легочного сосудистого сопротивления с 10 до 7,5 Wood/ m^2 , что свидетельствует о его эффективности.
3. Разработанный перфузионный комплекс, состоящий из общедоступного перфузиологического и анестезиологического оборудования, обеспечивает проведение адекватной нормотермической аппаратной *ex vivo* перфузии донорских легких в эксперименте.
4. Разработанный перфузионный раствор обеспечивает функциональную и морфологическую сохранность изолированных легких во всех наблюдениях.

Практические рекомендации

1. Дополнение стандартного перфузионного контура гемоконцентрационной колонкой позволяет корректировать онкотическое давление перфузата на протяжении всей перфузии.
2. Для восполнения дефицита оснований на протяжении всей процедуры *ex vivo* перфузии легких предпочтительно использовать гидрокарбонат натрия 8,4% либо трометамол.
3. С целью повышения газовой емкости перфузата необходимо добавлять отмые эритроциты до целевого значения гематокрита 10–15%.
4. При выполнении процедуры аппаратной перфузии предпочтительно легкие располагать в положении пронации, что позволяет облегчить дренаж по легочным венам и снизить риск развития отека базальных сегментов легких.
5. Спустя 60 минут перфузии рекомендуется замена раствора по 500 мл каждые 30 минут перфузии с целью удаления метаболитов.
6. Добавление к перфузату метилпреднизолона (1 грамм) снижает системную воспалительную реакцию, а также препятствует развитию ишемически-реперфузионного отека легочной паренхимы.

7. Добавление к перфузионной среде эритроцитарной взвеси позволяет достоверно увеличить газовую емкость перфузата.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Оценка эффективности разработанного раствора для нормотермической *ex vivo* перфузии легких по сравнению со Steen solutionTM (экспериментальное исследование) / С.В. Готье, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, Н.В. Грудинин [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 82–89.
2. Применение пероксиредоксина для preconditionирования трансплантата сердца крысы / С.В. Готье, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, Н.В. Грудинин [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 158–164.
3. Оценка сохранности миокарда крысы и изолированного сердца барана после пролонгированной 24-часовой гипотермической консервации под давлением газовой смеси на основе монооксида углерода / Е.Е.Фесенко, Е.Л. Гагаринский, А.С. Аверин, Н.В. Грудинин [и др.] // Биофизика. – 2020. – Т. 65. – № 4. – С. 780–791.

Список сокращений

ДИ	– доверительный интервал
ЛСС	– легочное сосудистое сопротивление
РАР	– давление в легочной артерии
ЧСС	– частота сердечных сокращений
EVLP	– <i>ex vivo</i> lung perfusion
FiO ₂	– фракция кислорода на вдохе
pH	– кислотность раствора
PaO ₂	– парциальное артериальное давление кислорода
PVR	– легочное сосудистое сопротивление
LAP	– давление в левом предсердии

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА У РЕЦИПИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

Золотова Е.Н., Попцов В.Н.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Сахарный диабет является одним из самых часто встречающихся метаболических нарушений. В частности, согласно отечественному многоцентровому исследованию NATION, распространенность сахарного диабета 2-го типа среди общей популяции населения Российской Федерации составляет 5,4% [Дедов И.И., 2016]. У пациентов со стабильным течением хронической сердечной недостаточности встречаемость сахарного диабета 2-го типа еще выше [Hinkel R., 2017] и составляет 24%, а госпитализируемых по поводу декомпенсации сердечной деятельности достигает 40% [Снеткова А.А., 2015]. Кроме того, по данным отечественных многоцентровых исследований, сам сахарный диабет является одной из ведущих причин возникновения хронической сердечной недостаточности у 15,9% пациентов [Мареев В.Ю., 2017].

Трансплантация сердца является одним из эффективных методов радикального лечения терминальной хронической сердечной недостаточности [Шумаков В.И., 2006]. В листе ожидания на трансплантацию сердца в 2019 году было суммарно 900 реципиентов сердца, и 337 из них впервые попали в лист ожидания в 2019 году [Готье С.В., 2020]. Выполнение трансплантации сердца реципиентам с сопутствующим сахарным диабетом остается предметом активного обсуждения среди специалистов кардиоторакальной трансплантологии [Lund L., 2013]. Влияние предсуществующего (развившегося до трансплантации) сахарного диабета на течение раннего и отдаленного посттрансплантационных периодов у реципиентов сердца не определено однозначно. Наличие хронических осложнений сахарного диабета у пациентов с терминальной хронической сердечной недостаточностью является причиной для отказа от трансплантации сердца или неудовлетворительных ее результатов [Miller L., 2006]. Отдельные

трансплантационные центры имеют успешный опыт выполнения трансплантации сердца у пациентов с сопутствующим сахарным диабетом [Chamarthi B., 2014]. Ранние, а также недавно опубликованные одно- и многоцентровые исследования демонстрируют сопоставимость результатов трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом и без данного заболевания [Jalowies A., 2017].

Как писалось ранее в статье «Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом» [Попцов В.Н., 2018], согласно одним исследованиям, сахарный диабет повышает риск острого отторжения и инфекционных осложнений, вероятность прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца и уменьшает выживаемость реципиентов [Marelli D., 2003]. Другие исследования не подтверждают эти данные. Однако реципиенты с сахарным диабетом осложненного течения имеют выживаемость значительно худшую, чем реципиенты без сахарного диабета [Saraiva J., 2011]. Тем не менее изолированно сахарный диабет не должен рассматриваться как противопоказание к трансплантации сердца [Russo M.J., 2006]. В условиях нехватки донорских органов лучшие результаты в этой области могут быть достигнуты совершенствованием базисной терапии сахарного диабета и использованием «альтернативного» листа ожидания для пациентов с повышенным периоперационным риском [Chen J.M., 2005].

Также важным вопросом в посттрансплантационном периоде является выбор иммуносупрессии. Выживаемость среди реципиентов сердца, получающих иммуносупрессивную терапию на основе такролимуса, выше по сравнению с циклоспорином благодаря снижению риска острого клеточного отторжения в течение первого года. К значимому преимуществу такролимуса следует отнести достоверное и значительное снижение частоты развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца по сравнению с циклоспорином [Готье С.В., 2014]. Вместе с тем такролимус обладает большим диабетогенным эффектом, чем циклоспорин [Velleca A., 2013].

В последние годы развитие трансплантации сердца в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» (ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России) также было связано с увеличением количества трансплантаций реципиентам с предтрансплантационным сахарным диабетом (с 2009 г. по настоящее время). Данная тема и накопленный опыт представляют несомненный интерес для современной науки и медицины.

Цель исследования

Оценить результаты трансплантации сердца как радикального метода лечения терминальной сердечной недостаточности у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом.

Задачи исследования

1. Изучить распространенность сахарного диабета среди реципиентов сердца и его влияние на их предтрансплантационный статус.
2. Оценить и сравнить тяжесть предтрансплантационного состояния, структуру и выраженность сопутствующей патологии у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа и без такового.
3. Провести сравнительный анализ характеристик донора сердца при трансплантации реципиентам с и без предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа.
4. Выявить влияние предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа на характер восстановления первичной функции сердечного трансплантата, состояние центральной гемодинамики, на течение раннего периода после трансплантации сердца, а также структуру и тяжесть ранних послеоперационных осложнений.
5. Выявить влияние предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа на выбор схемы иммуносупрессивной терапии, степень прогрессирования трансмиссивного атеросклероза, развитие и тяжесть болезни коронарных артерий пересаженного сердца, структуру и тяжесть отдаленных посттрансплантационных осложнений.
6. Оценить влияние предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа на раннюю и отдаленную выживаемость реципиентов сердца.

Научная новизна

Впервые подробно проанализированы ранний и отдаленный посттрансплантационные периоды, частота встречаемости трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий трансплантата, болезни коронарных артерий пересаженного сердца, иммуносупрессивной терапии, характер восстановления насосной функции трансплантата у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа. На основании собственного опыта доказано, что реципиенты с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа имеют достоверно более выраженную коморбидность.

Практическая значимость

На основании полученных данных продемонстрирована высокая результативность выполнения трансплантации сердца реципиентам с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа.

Показана более частая встречаемость у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа хронической болезни почек и потребность в заместительной почечной терапии в ранние сроки после трансплантации сердца.

Показано, что наличие предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа не оказывает отрицательного влияния на характер восстановления начальной функции сердечного трансплантата.

Показано, что у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа достоверно более часто развивается постперфузионная сосудистая недостаточность, что обуславливает большую потребность в метиленовом синем и норадреналине.

Показано, что у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа была достоверно больше кровопотеря в послеоперационном периоде и большая частота выполнения рестернотомии.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты госпитальной и отдаленной выживаемости реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа сопоставимы с результатами трансплантации сердца у реципиентов без предтрансплантационных нарушений углеводного обмена.
2. Реципиенты с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа отличаются от реципиентов без предтрансплантационного нарушения углеводного обмена более выраженной предтрансплантационной коморбидностью.
3. Ранний посттрансплантационный период у реципиентов сердца с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа характеризуется более частым развитием постперфузионной сердечной недостаточности, более выраженными проявлениями почечной дисфункции, а также более выраженной гипергликемией.
4. Наличие предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа не влияет на течение отдаленного посттрансплантационного периода: частоту развития отторжения сердечного трансплантата, инфекционных и неинфекционных осложнений.

Методология и методы исследования

Включение реципиентов в лист ожидания осуществлялось в соответствии с рекомендациями International Society for Heart and Lung Transplantation и Российского трансплантологического общества. Клиническая характеристика реципиентов сердца проводилась посредством лабораторных и инструментальных методов исследования, таких как общий анализ крови, биохимический анализ крови, гликемическая кривая, транспищеводное эхокардиографическое исследование, инвазивное измерение артериального давления, непрерывная термодилуционная волюметрия правого желудочка, катетеризация легочной артерии. В посттрансплантационном периоде проводили оценку функции сердечного трансплантата, используя инвазивные и неинвазивные методы исследования. Производилась оценка

постперфузионной сосудистой недостаточности на основании критериев, предложенных Chan J.L. и соавт., 2018 г. Определение степени поражения коронарных артерий при болезни коронарных артерий пересаженного сердца проводили с помощью классификации, предложенной Gao S.Z. и соавт., 1988 г. Также проводилась статистическая обработка полученных данных.

Степень достоверности

Достоверность полученных результатов в ходе исследования обоснована объемом выборки: 891 реципиент сердца за анализируемый период, из которых у 80 реципиентов был диагностирован сахарный диабет 2-го типа до трансплантации сердца. Использовались современные методы статистической обработки данных. Работа выполнена в рамках государственных заданий Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок по теме: «Разработка подходов к улучшению отдаленных результатов трансплантации сердца путем создания персонализированных методов диагностики и лечения острой и хронической дисфункции трансплантата и коморбидных состояний у реципиентов» (2018–2020 гг.).

Внедрение в практику

Основные положения и выводы диссертации внедрены в клиническую практику отделения анестезиологии и реанимации ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова», отделения анестезиологии и реаниматологии для трансплантации органов Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы» (ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»), а также в учебный процесс на кафедре трансплантологии и искусственных органов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Работы, опубликованные по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 статья в зарубежном издании.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

В исследование были включены 891 (785 (88,1%) мужчин и 106 (11,9%) женщин) реципиент, которым была выполнена ортотопическая трансплантация сердца (ТС) в возрасте от 10 до 78 (медиана возраста реципиента 49 [36; 56]) лет в период с 01.01.2011 г. по 31.12.2018 г. Период наблюдения за пациентами, включенными в исследование, закончился 31.12.2020. Для умерших пациентов период наблюдения составил интервал от момента выполнения ТС до момента летального исхода, произошедшего в период с 01.01.2011 г. Для пациентов, остающихся живыми, период наблюдения соответствовал интервалу от момента выполнения ТС по 31.12.2020 г.

Включение пациентов с терминальной хронической сердечной недостаточностью (ХСН) в лист ожидания ТС производили в соответствии с рекомендациями International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) от 2016 г.

У 284 (31,9%) реципиентов неотложность выполнения ТС соответствовала статусу 1A UNOS, у 143 (16,0%) – статусу 1B, у 464 (52,1%) – статусу II, n = 891.

У 266 (29,9%) реципиентов применили предтрансплантационную механическую поддержку кровообращения (МПК). Использовали методы как краткосрочной (у 255 (95,9%) из 266 реципиентов), так и длительной МПК: вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация (ВА ЭКМО) (n = 246 (92,5%) с центральной (n = 5) и с периферической (n = 241) методикой канюляции; внутриаортальная баллонная контрпульсация (n = 8 (3,0%); имплантируемая система левожелудочкового обхода АВК-Н (Россия) с осевым насосом (n = 9 (3,4%); имплантируемая система левожелудочкового обхода «Incor» с осевым насосом (Германия) (n = 1 (0,4%); имплантируемая система левожелудочкового обхода с центрифужным насосом HeartWare (n = 1 (0,4%); паракорпоральный обход правого желудочка с центрифужным насосом Biopump 80 ml (США) (n = 1 (0,4%).

Наиболее часто встречающейся сопутствующей патологией у реципиентов в предтрансплантационном периоде была артериальная гипертензия 2-й ст. / 3-й ст.; n = 60 (6,7%). 62 (7,0%) реципиента имели предшествующие оперативные вмешательства на открытой грудной клетке и полости перикарда.

Для описания, диагностики, классификации, терапии сахарного диабета использовали «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» [Дедов И.И., 2019]. Под сахарным диабетом 2-го (СД2) типа подразумевали нарушение углеводного обмена, вызванное преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсули-

новой недостаточностью или преимущественным нарушением секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без нее.

В амбулаторном порядке все реципиенты сердца в дотрансплантационном периоде были консультированы штатным эндокринологом на предмет наличия нарушений углеводного обмена и других эндокринологических патологий.

У потенциальных реципиентов сердца с сопутствующим СД 2-го типа отдавалось предпочтение препаратам с низким риском гипогликемии. Назначение и коррекция сахароснижающих препаратов до ТС производилась совместно со штатным эндокринологом на этапах амбулаторного или стационарного лечения.

Если исходный показатель гликированного гемоглобина HbA1c превышал индивидуальный целевой уровень более чем на 2,5%, то данная ситуация часто характеризовалась наличием выраженной глюкозотоксичности, для уменьшения которой начинали инсулинотерапию (или комбинацию инсулина с пероральными сахароснижающими препаратами).

В случае декомпенсации СД в дотрансплантационном периоде интенсифицировалось стационарное лечение с целью стабилизации уровня глюкозы у реципиента сердца. В случае если пациент поступал на ТС из дома (статус 2 по UNOS), то он экстренно консультировался эндокринологом.

В ряде случаев в предтрансплантационном периоде пациенты с нарушением углеводного обмена по назначению эндокринолога, с учетом персонализированного подхода к лечению, переводились на фоновый режим инсулинотерапии. В раннем посттрансплантационном периоде реципиентам по потребности проводилась продленная внутривенная инфузия инсулина через дозатор лекарственных средств, с последующим переходом на фоновый режим. Дальнейшее назначение сахароснижающей терапии проводилось с учетом приема иммуносупрессивной терапии по назначению эндокринолога.

Были выделены 2 группы реципиентов сердца в зависимости от наличия или отсутствия предтрансплантационного СД 2-го типа. Из всей когорты реципиентов сердца ($n = 891$) из последующего анализа были исключены следующие категории реципиентов: 1) реципиенты с нарушениями углеводного обмена по типу нарушения толерантности к глюкозе ($n = 212$); 2) реципиенты с предтрансплантационным СД 1-го типа ($n = 4$); 3) реципиенты с предтрансплантационным стероидным диабетом ($n = 1$); 4) реципиенты повторной ТС (ретрансплантация сердца) с развившимся посттрансплантационным СД (ПТСД) после первичной ТС ($n = 11$). После исключения из общей когорты вышеописанных категорий реципиентов в исследование были включены оставшиеся 663 (74,4%) из 891 реципиента сердца, которые были разделены на две исследовательские группы в зависимости от наличия или отсутствия предтрансплантационного СД 2-го типа – соответственно группа с СД 2-го типа, или основная группа ($n = 80$), и группа без СД 2-го типа, или контрольная группа ($n = 583$).

У всех реципиентов, вошедших в исследовательские группы с и без предтрансплантационного СД 2-го типа ($n = 663$), ТС была выполнена по методике дистанционного забора донорского сердца. Во всех наблюдениях для последующей трансплантации использовали сердца от доноров с констатированной смертью головного мозга.

При оценке пригодности донорского сердца для пересадки определяли следующие показатели [Jacqueline M.S., 2012]:

- группу крови потенциального донора;
- возраст потенциального донора;
- пол потенциального донора;
- причину смерти мозга потенциального донора;
- наличие при жизни у потенциального донора артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, сахарного диабета;
- продолжительность атонической комы;
- продолжительность нахождения потенциального донора на искусственной вентиляции легких;
- наличие данных об ушибе или повреждении грудной клетки;
- наличие или отсутствие реанимационных мероприятий;
- наличие и длительность периода нестабильной системной гемодинамики, потребовавшей применения допамина в дозировке более 20 мкг/кг/мин.

Под ранней дисфункцией сердечного трансплантата подразумевали нарушение насосной функции сердечного трансплантата, развившееся в первые 24 часа после ТС вследствие различных неиммунологических и иммунологических причин.

Выделяли первичную и вторичную раннюю дисфункцию сердечного трансплантата.

Диагноз первичной дисфункции сердечного трансплантата устанавливали в соответствии с критериями ISHLT от 2010 г. Для объективизации постановки диагноза первичной дисфункции сердечного трансплантата также использовали ее определение, предложенное Segovia J. и соавт., 2011.

Вторичная дисфункция сердечного трансплантата – нарушение насосной функции донорского сердца в раннем посттрансплантационном периоде, обусловленное иммунологическими причинами, неуправляемой легочной гипертензией или техническими хирургическими погрешностями.

Постперфузионную сосудистую недостаточность (ППСН), или вазоплегический синдром, у реципиентов сердца диагностировали на основании критериев, предложенных Chan J.L. и соавт., 2018 г.:

- развитие в течение 48 ч после трансплантации сердца;
- нормальные показатели насосной функции сердечного трансплантата: ФИЛЖ $\geq 55\%$ (по данным эхокардиографического исследования), СИ $> 2,0$ л/мин/м²;

- необходимость применения вазопрессорных препаратов в течение 24 ч и более с целью поддержания среднего АД на уровне выше 70 мм рт. ст., что достигается применением одного или нескольких лекарственных препаратов с вазопрессорным действием.

Диагноз острого повреждения почек (ОПП) устанавливали в соответствии с критериями AKIN [Thomas M.E., 2015]. ОПП диагностируется при наличии одного из приведенных ниже критериев: 1) повышение креатинина плазмы на 26 мкмоль/л от исходного уровня за 48 ч; 2) повышение креатинина плазмы в 1,5 раза от базового уровня, которое точно или предположительно произошло в течение недели; 3) выделение мочи < 0,5 мл/кг/ч более 6 ч подряд.

Скорость клубочковой фильтрации рассчитывалась по формуле CKDEPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration).

Для проведения заместительной терапии (ЗПТ) методом постоянной вено-венозной гемофильтрации (ПВВГФ) использовали аппарат фирмы Multifiltrate.

Диагноз и выраженность хронической болезни почек (ХБП) устанавливали по степени снижения скорости клубочковой фильтрации по классификации KDIGO 2012 [Elnoyan G., 2012].

Для определения степени поражения при болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) применяли классификацию, предложенную Gao S.Z. и соавт., 1988 г. Первый тип поражения коронарных артерий при БКАПС характеризуется преимущественно одиночными или множественными локальными стенозами проксимальных, средних и дистальных сегментов крупных коронарных ветвей первого и второго порядка; второй тип – наличием преимущественно диффузного поражения коронарных артерий второго – третьего порядка, характеризующегося постепенным или резким началом стенотического сужения, с облитерацией дистального русла и мелких концевых артерий.

Диагноз БКАПС ставился на основе ISHLT Guidelines for the care of heart transplantation recipients 2010 г.

Статистическую обработку данных исследования выполняли с помощью электронных таблиц Microsoft Excel и программного обеспечения SPSS Statistics 20. Все исследуемые параметры проверялись на нормальное распределение с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Для представления параметрических данных использовалось среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$), верхние и нижние границы. Для описания непараметрических переменных использовалась медиана и интерквартильный размах (интервал между 25% и 75% процентилями). Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по точному критерию Фишера. Для сравнения переменных в исследуемых группах использовался U-тест Манна–Уитни, а также t-критерий Стьюдента. Анализ выживаемости проводился методом Кап-

лана–Мейера. Статистически значимыми считали различия, при которых вероятность ошибки составляла менее 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты исследования

В период 2011–2018 гг. в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» было выполнено 891 ТС. За анализируемый период предсуществующий СД 2-го типа был выявлен у 80 реципиентов, доля составила 9,0%.

Возраст реципиентов в основной группе (группа с СД2) был от 20 до 78 лет, медиана возраста составила 54 [46; 59] года. Возраст 19 (23,8%) реципиентов составил 60 лет и старше, включая 2 (2,5%) реципиентов в возрасте 70 лет и старше. В группе с СД2 6 (7,5%) реципиентов – женщины, 74 (92,5%) – мужчины. Рост реципиентов сердца в данной группе составил от 153 до 188, медиана роста 175 [170;180] см, вес – от 59 до 127, медиана веса 85,0 [78,3; 95,0] кг, S поверхности тела – от 1,56 до 2,45, медиана 2,0 [1,9; 2,1] м², ИМТ – от 19,5 до 38,3, медиана 28,3 [25,2; 31,4] кг/м². Ожирение (ИМТ $\geq 30,0$ кг/ м²) имели 28 (35,0%) реципиентов: ожирение I степени (ИМТ от 30 до 34,9 кг/ м²) – 24 (30,0%); ожирение II степени (ИМТ от 35 до 39,9 кг/ м²) – 5 (6,3%).

При сравнительном анализе было достоверно установлено, что реципиенты «группа с СД2» были старше (54 [46; 59] года против 48 [35; 56] лет ($p < 0,001$)), имели больший вес (85,0 [78,3; 95,0] против 75,0 [65,0; 89,0] ($p < 0,001$)), больший ИМТ ($p < 0,001$) и большую площадь поверхности тела ($p < 0,001$). Доля пациентов с ожирением в группе с СД 2-го типа больше в 1,7 раза, чем в группе без СД 2-го типа – 35,0% против 20,1% ($p = 0,004$). Также в группе с предтрансплантационным СД 2-го типа лидирующей причиной развития застойной сердечной недостаточности и необходимости выполнения ТС стала ишемическая кардиомиопатия (65%, $p < 0,001$), в контрольной группе – дилатационная кардиомиопатия (57,2%, $p < 0,001$).

Подавляющее большинство реципиентов с СД 2-го типа имели выраженность хронической сердечной недостаточности ПБ (85,2%). 42 (52,5%) реципиентам сердца с предсуществующим СД 2-го типа было достаточно традиционной медикаментозной терапии для неосложненного дожития до ТС во внегоспитальных условиях. 18 (22,5%) реципиентов потребовали применения внутривенной кардиотонической симпатомиметической терапии. 20 (25,0%) реципиентам основной группы потребовалось применение механической поддержки кровообращения в предтрансплантационном периоде.

У 20 (25%) из 80 реципиентов основной группы применили предтрансплантационную механическую поддержку кровообращения в виде периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации. Доля пациентов с предтрансплантационной механической

поддержкой кровообращения в основной и контрольной группах достоверно не отличалась. Достоверного различия в частоте применения предтрансплантационной МПК в двух сравниваемых группах получено не было.

В группе с предтрансплантационным СД 2-го типа выше ($p < 0,05$) уровень мочевины и креатинина, что ассоциировано с большей ($p < 0,05$) частотой встречаемости предсуществующей хронической болезни почек (ХБП) в сравнении с контрольной группой (табл. 1). Вместе с тем биохимические проявления дотрансплантационной печеночной дисфункции (общий билирубин, протромбиновый индекс (ПИ) и международное нормализованное отношение (МНО) были более ($p < 0,05$) выражены у реципиентов контрольной группы.

Таблица 1

**Лабораторные показатели реципиентов сердца
в основной и контрольной группах (n = 663)**

Показатель	Наличие СД2 у реципиента		p
	Группа с СД2 (n = 80)	Группа без СД2 (n = 583)	
Общий билирубин, мкмоль/л	20,3 [13,3; 36,5]	25,0 [15,6; 50,0]	0,042
Мочевина, ммоль/л	8,3 [6,0; 10,0]	6,7 [5,6; 10,2]	0,036
Креатинин, мкмоль/л	105,2 [82,4; 110,0]	90,0 [77,0; 112,8]	0,042
СКФ, мл/мин	67,5 [62,7; 88,7]	79,9 [60,4; 95,7]	0,046
Общий белок, г/л	72,0 [68,5; 76,3]	71,8 [65,5; 76,3]	0,020
АЛТ, Ед/л	21,0 [14,0; 35,0]	24,0 [15,6; 42,2]	0,147
АСТ, Ед/л	24,0 [19,0; 30,0]	27,0 [20,0; 39,0]	0,145
Протромбиновый индекс, %	84,0 [69,0; 91,5]	78,0 [65,0; 88,0]	0,025
МНО	1,2 [1,0; 1,6]	1,4 [1,1; 1,7]	0,047
Лейкоциты	7,8 [6,7; 9,4]	7,5 [6,0; 8,9]	0,095
Тромбоциты	188,5 [142,0; 237,0]	192,0 [134,0; 243,0]	0,694
Уровень глюкозы (в любой момент времени), ммоль/л	7,9 [6,4; 9,2]	6,1 [5,4; 6,9]	<0,001

Среди реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа достоверно выше была встречаемость в дотрансплантационном периоде артериальной гипертензии – 14 (17,5%), дисциркуляторной энцефалопатии – 11 (13,8%), мультифокального атеросклероза – 11 (13,8%), атеросклероза брахиоцефальных артерий – 8 (10%), облитерирующего атеросклероза нижних конечностей – 6 (7,5%), мочекаменной болезни – 3 (3,8%), немедикаментозно-индуцированного клинического /субклинического гипотиреоза – 7 (8,8%), хронической болезни почек – 9 (11,3%), n = 663.

Предтрансплантационное инвазивное исследование центральной гемодинамики, включавшее катетеризацию правых отделов сердца и легочной

артерии термодилузионным катетером типа Svan–Ganz и при наличии высокой легочной гипертензии проведение функциональных проб с ингаляционным оксидом азота и/или другими легочными вазодилататорами, выявило, что гемодинамические проявления ХСН и предтрансплантационной ЛГ были более выражены у реципиентов основной группы. Гемодинамический статус до ТС у реципиентов основной группы характеризовался более ($p < 0,05$) низким значением СИ и более высокими ($p < 0,05$) значениями давлений (систолического, диастолического, среднего и заклинивающего) легочной артерии, транспульмонального градиента (ТПГ) и легочного сосудистого сопротивления (ЛСС). Доля пациентов с предтрансплантационным уровнем ЛСС более 4 ед. Вуда также была больше в основной группе (31,3% против 14,9%).

Оперативные вмешательства на открытой грудной клетке (продольная стернотомия) и полости перикарда, предшествовавшие первичной или повторной ТС, были выполнены у 8 (10%) реципиентов основной группы. Доля реципиентов с перенесенными оперативными вмешательствами в основной группе была больше, чем в контрольной: 8 (10%) против 37 (6,5%).

В период до ТС реципиентам сердца с предтрансплантационным СД 2-го типа проводилась сахароснижающая терапия: 16 (20%) реципиентов придерживались только диетотерапии, 44 (55%) реципиента получали пероральные сахароснижающие препараты, 20 (25%) реципиентам проводилась инсулинотерапия.

Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) на момент выполнения ТС составил 7,4%, в том числе у 51 (63,8%) – менее 7,4%, у 29 (36,2%) – более 7,4%.

Во всех наблюдениях использовались сердца для ТС от доноров с констатированной смертью головного мозга. Подавляющее большинство пар «донор–реципиент» по половой принадлежности были мужчина–мужчина. Медиана возраста сердечного донора в группе с СД2 составила 45,0 [34,0; 55,5] года, медиана веса донора – 85 [75; 90] кг. Медиана продолжительности ИВЛ в группе с СД2 и в группе без СД2 составила 2 [1; 3] дня. Достоверные отличия наблюдались в значениях тропонина Т, потребности в симпатомиметической терапии и отношении «вес донора – вес реципиента».

Характер восстановления насосной функции сердечного трансплантата, системной гемодинамики, органной функции и гомеостаза в раннем периоде у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа

Ранний посттрансплантационный период характеризовался отсутствием достоверных различий в частоте возникновения тяжелой ранней дисфункции сердечного трансплантата, потребовавшей механической поддержки

кровообращения, между реципиентами основной и контрольных групп – соответственно 12,5% против 10,6% ($p = 0,756$) (табл. 2). На начальном этапе функционирования сердечного трансплантата реципиенты обеих групп не различались по величине максимальной симпатомиметической поддержки допамином, адреналином и добутамином.

Таблица 2

**Ранний посттрансплантационный период у реципиентов
основной и контрольной групп**

Показатель	Наличие СД2 у реципиентов		p
	Группа с СД2 (n = 80)	Группа без СД2 (n = 583)	
Ишемия трансплантата, мин	154 [133; 185]	159 [131; 194]	0,597
Продолжительность ИК, мин	119 [100; 142]	120 [93; 152]	0,878
Допамин n/% мкг/кг/мин (макс.)	76/95,0 6 [4;10]	454/77,9 6 [4; 8]	<0,001 0,184
Добутамин n/% мкг/кг/мин (макс.)	54/67,5 4,0 [3,5; 6,0]	329/56,4 5,0 [4,0; 6,0]	0,079 0,769
Адреналин n/% нг/кг/мин (макс.)	78/97,5 40,0 [60,0; 80,0]	449/77,0 43,0 [20,0; 58,0]	<0,001 0,299
Норадреналин n/% нг/кг/мин (макс.)	26/32,5 89,0 [70,0; 95,0]	81/13,9 61,0 [55,0; 80,0]	<0,001 0,155
Метиленовый синий, n/%	28/35,0	88/15,1	<0,001
Постперфузионная сосудистая недостаточность, n/%	30/37,5	93/16,0	<0,001
Первичная дисфункция транс- плантата, n/%	17/21,3	130/22,3	0,946
ПостОТС – МПК, n/%	10/12,5	62/10,6	0,756
Посттрансплантационная МПК, сутки	3,5 [1,5; 5,5]	3 [2; 5]	0,524
Периоперационная кровопотеря, мл	1950,0 [700,0; 2500,0]	1350,0 [700,0; 2000,0]	0,467
Послеоперационная кровопотеря, мл	1050,0 [700,0; 2500,0]	550,0 [700,0; 400,0]	0,038
Реторакотомия, n/%	10/12,5	34/5,8	0,045
Послеоперационная ИВЛ, часы	8,5 [6,0; 13,0]	9,0 [6,0; 14,5]	0,831
Продленная ИВЛ, потребовавшая выполнения трахеостомии, n/%	9/11,3	43/7,4	0,324
Общ. билирубин (макс.), мкмоль/л	43,0 [31,7; 69,4]	47,0 [30,7; 77,8]	0,888

Окончание табл. 2

Показатель	Наличие СД2 у реципиентов		p
	Группа с СД2 (n = 80)	Группа без СД2 (n = 583)	
АЛТ (макс.), Ед/л	42 [30; 54]	42 [31; 81]	0,770
АСТ (макс.), Ед/л	129 [98; 236]	108 [143; 193]	0,585
Мочевина (макс.), ммоль/л	16,7 [12,2; 22,2]	14 [10,1; 18,8]	0,022
Креатинин (макс.), мкмоль/л	151,2 [115,6; 218,7]	133,9 [100,1; 174]	0,019
Общий белок (мин.), г/л	58 [54; 62]	66 [63; 68]	<0,001
ПИ (мин.), %	67,0 [60,0; 74,0]	71,0 [63,0; 77,0]	0,016
Лейкоциты (макс.)	20,2 [17,4; 23]	18,1 [15,2; 22,3]	0,028
С-реактивный белок, мг/л	15,1 [10,0; 19,0]	13,2 [9,0; 17,0]	0,020
Тромбоциты (мин.)	76,0 [56,0; 103,5]	105,5 [51,0; 107,0]	0,041
Прокальцитонин (макс.)	8,8 [2,7; 23,9]	6,4 [2,6; 17,7]	0,159
Постоперационный делирий, n/%	19/23,8	73/12,5	0,011
ЗПТ: ПВВГФ, n/%	36/45,0	163/28,0	0,003
Начало ПВВГФ, п/о сутки	1,5 [1,0; 2,0]	4,0 [2,0; 12,0]	0,002
Переход с ПВВГФ на интермит- тирующую ГДФ, n/%	13/16,3	61/10,5	0,177
Количество пациентов, получа- ющих инсулинотерапию через дозатор после ТС, n/%	80/100	163/28,0	<0,001
В/в введение инсулина, ед/день	66,7 [50; 89,3]	50,0 [33,3; 66,7]	<0,001
В/в введение инсулина, продол- жительность дней	2,0 [1,0; 5,0]	1,0 [0,5; 2,0]	<0,001
ОРИТ, сутки	6 [5; 10]	6 [4; 8]	0,098
Госпитальная летальность, n/%	7/8,8	49/8,4	0,913
Госпитальная выживаемость, n/%	73/91,2	534/91,6	0,913

Выявленным гемодинамическим феноменом у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа значимо ($p < 0,05$) чаще (в 2,3 раза) наблюдалось развитие постперфузионной сосудистой недостаточности, для коррекции которой потребовалось более ($p < 0,05$) частое назначение симпатомиметических препаратов с вазопрессорным действием (допамина, адреналина, норадреналина), а также более ($p < 0,05$) частое применение патогенетически-обоснованного метода ее коррекции – метиленового синего. Максимальная дозировка норадреналина также была выше ($p < 0,05$) у реципиентов в группе с СД 2-го типа.

Отличительной особенностью реципиентов группы с СД 2-го типа была в 2,2 раза большая ($p < 0,05$) потребность в реторакотомии в связи с большим ($p < 0,05$) объемом послеоперационной кровопотери, чему сопутство-

вали более ($p < 0,05$) выраженная тромбоцитопения, гипопротейнемия и более ($p < 0,05$) низкие значения протромбинового индекса у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа.

Клинико-биохимические проявления острого повреждения почек в раннем посттрансплантационном периоде были более ($p < 0,05$) выражены у реципиентов в основной группе, что обусловило в 1,6 раза большую ($p < 0,05$) потребность в заместительной почечной терапии. Продолжительность применения постоянных методов заместительной почечной терапии (продленная вено-венозная гемофильтрация ПВВГФ) была дольше ($p < 0,05$) также в основной группе.

Послеоперационный делирий, потребовавший применения галоперидола в комбинации или без дексмететомидина, почти в 2 раза чаще ($p < 0,05$) развивался у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа (23,8% против 12,5%).

Ведущими инфекционными осложнениями в госпитальном периоде у реципиентов как основной, так и контрольной групп явились пневмония (преимущественно бактериальной этиологии) и гнойный медиастинит, частота возникновения которых составила соответственно 18,8% (группа СД 2-го типа) против 19,0% (группа без СД 2-го типа) ($p = 0,919$) и 2,5% (группа СД 2-го типа) против 2,1% (группа без СД 2-го типа) ($p = 0,86$). Достоверного различия в частоте развития перечисленных инфекционных осложнений между реципиентами обеих групп не было выявлено.

Вышеперечисленное не повлияло на сроки послеоперационной активизации реципиентов. По продолжительности послеоперационной ИВЛ и потребности в ее длительном (более 24 ч) применении различий между двумя анализируемыми когортами реципиентов не было выявлено.

Динамика лабораторных показателей у реципиентов сердца в различные сроки после выписки из стационара

При анализе гликемических кривых и уровня гликированного гемоглобина в разные сроки наблюдений после ТС было выявлено более значимое различие между анализируемыми группами реципиентов сердца. В частности, на всех этапах наблюдения уровень гликированного гемоглобина был достоверно выше у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа. Кроме того, заслуживает особого внимания повышение (выше нормальных значений) уровня гликемии у реципиентов сердца без предтрансплантационного СД 2-го типа, что необходимо учитывать при выборе оптимальной схемы посттрансплантационной иммуносупрессивной и адъювантной терапии, а также при персонализированном подходе к разработке практических рекомендаций по ограничению углеводной пищевой нагрузки (диета).

При анализе динамики основных лабораторных показателей, отражающих состояние гомеостаза в целом, и в частности органную функцию, достоверное различие между анализируемыми группами по отдельным показателям было выявлено только на определенных этапах наблюдения и не носило клинически значимого значения (табл. 3).

Таблица 3

**Лабораторные показатели у реципиентов основной (n = 73)
и контрольной (n = 534) групп, выписанных из стационара
после трансплантации сердца (n = 607)**

Параметр	Год после трансплантации сердца			
	1	2	3	4
n,% по отношению к выписанным из стационара с СД2 (n = 73) без СД2 (n = 534)	58/79,5 417/78,1	57/78,1 410/76,8	43/58,9 315/59,0	31/42,5 228/42,7
Гемоглобин, г/л с СД2 без СД2	p = 0,0165 162,5 ± 13,2 158,3 ± 14,1	137,0 ± 9,5 135,0 ± 8,7	128,0 ± 25,0 130,0 ± 27,0	134,5 ± 11,2 133,3 ± 9,1
Лейкоциты с СД2 без СД2	6,6 ± 1,8 6,8 ± 1,5	7,7 ± 1,7 7,8 ± 1,9	6,0 ± 1,1 6,3 ± 1,9	6,6 ± 1,8 6,8 ± 1,5
Тромбоциты с СД2 без СД2	164,0 ± 93,9 175,0 ± 85,3	p = 0,0079 140,0 ± 26,8 149,0 ± 27,1	207,0 ± 31,1 215,0 ± 41,0	164,0 ± 93,9 175,0 ± 85,3
АСТ, Ед/л с СД2 без СД2	20,9 ± 8,9 21,2 ± 7,5	p = 0,0129 17,0 ± 9,9 20,0 ± 9,6	p = 0,0013 17,9 ± 3,0 19,0 ± 2,7	20,9 ± 8,9 21,2 ± 7,5
АЛТ, Ед/л с СД2 без СД2	19,2 ± 5,3 19,8 ± 4,2	p = 0,0001 18,1 ± 4,8 23,0 ± 5,1	18,1 ± 12,6 20,0 ± 11,7	19,2 ± 5,3 19,8 ± 4,2
Билирубин общ., мкмоль/л с СД2 без СД2	p = 0,0399 28,6 ± 6,1 27,1 ± 5,8	21,0 ± 10,7 19,0 ± 9,8	16,2 ± 14,8 17,1 ± 10,1	p = 0,0399 28,6 ± 6,1 27,1 ± 5,8
Мочевина, мкмоль/л с СД2 без СД2	11,6 ± 4,3 11,4 ± 3,2	9,5 ± 8,2 10,1 ± 7,5	9,2 ± 4,6 8,9 ± 7,1	11,6 ± 4,3 11,4 ± 3,2
Креатинин, ммоль/л с СД2 без СД2	117,7 ± 19,6 118,5 ± 18,1	p = 0,0233 125,5 ± 56,9 110,0 ± 54,3	109,0 ± 75,0 105,0 ± 63,0	117,7 ± 19,6 118,5 ± 18,1
Общий белок, г/л с СД2 без СД2	79,7 ± 4,6 78,5 ± 5,3	p = 0,0001 70,8 ± 6,5 65,3 ± 5,8	p = 0,0001 71,2 ± 4,0 68,0 ± 7,0	79,7 ± 4,6 78,5 ± 5,3

Анализ госпитальной и отдаленной летальности

В госпитальном периоде умерло 56 (8,4%) из 663 реципиентов, включенных в исследование. Госпитальная летальность в группе реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа составила 7 человек (8,8%), в группе сравнения – 49 человек (8,4%) ($p > 0,05$). Ведущими причинами госпитальной летальности являлись полиорганная недостаточность, развившаяся на фоне первичной дисфункции сердечного трансплантата, острого криза отторжения и других причин инфекционного и неинфекционного генеза (табл. 4). Между группами отсутствовало различие в структуре госпитальной летальности.

Таблица 4

**Причины госпитальной летальности у реципиентов
основной и контрольной групп (n = 56)**

Причина смерти	Наличие предтрансплантационного СД 2-го типа у реципиентов, умерших в ранние сроки после ТС		p
	Группа с СД2 (n = 7)	Группа без СД2 (n = 49)	
Полиорганная недостаточность, не связанная с развитием первичной дисфункции трансплантата	4/57,1	20/40,8	0,684
Полиорганная недостаточность, развившаяся на фоне первичной недостаточности функции трансплантата	2/28,6	13/26,5	0,733
Острый криз отторжения	1/14,3	10/20,4	0,899
Другие причины	0	5/10,2	>0,05

За анализируемый период умерло 107 (17,6%) из 607 реципиентов сердца, выписанных из стационара, в том числе 13 (17,8%) из 73 (группа с СД 2-го типа) и 95 (17,8%) из 534 (группа без СД 2-го типа). Структура летальных осложнений реципиентов в отдаленные сроки после ТС представлена в табл. 5. Исследование не выявило достоверного различия в частоте развития летальных осложнений инфекционного и неинфекционного генеза между реципиентами анализируемых групп. Отмечена тенденция к большей частоте инфекционных летальных осложнений у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа (38,5% против 17,0% ($p = 0,147$)).

Таблица 5

**Причины отдаленной летальности (n = 107) у реципиентов
основной и контрольной групп, выписанных из стационара
после трансплантации сердца**

Причина смерти	Наличие СД2 у реципиентов		p
	Группа с СД2 (n = 13)	Группа без СД2 (n = 94)	
Инфекционные осложнения	5/38,5	16/17,0	0,147
Отторжение	3/23,1	22/23,4	0,747
БКАПС	2/15,4	18/19,1	0,958
Внезапная смерть	1/7,6	22/23,4	0,352
Онкология	0	6/6,4	0,769
Причина неизвестна	2/15,4	10/10,7	0,712

Наличие предтрансплантационного СД 2-го типа достоверно не повлияло ($p = 0,904$) не только на раннюю, но и отдаленную выживаемость реципиентов после ТС.

Заключение

При сравнительном исследовании выявили, что реципиенты с предтрансплантационным СД 2-го типа были старше по возрасту, имели более высокий вес и ИМТ по сравнению с реципиентами без дотрансплантационных нарушений углеводного обмена. Закономерно ишемическая болезнь сердца (ИБС) была ведущей причиной развития терминальной ХСН у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа. Преимущественное нарушение систолической и диастолической функции левого желудочка (ЛЖ) обусловило более выраженные проявления предтрансплантационной ЛГ у данной когорты реципиентов сердца. Почти 1/3 составили реципиенты с предтрансплантационным уровнем ЛСС более 4 ед. Вуда. Кроме того, как показало данное исследование, при подготовке и выполнении ТС у реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа необходимо учитывать более выраженные проявления дооперационной почечной дисфункции и наличие сопутствующей патологии (артериальная гипертензия (АГ), мультифокальный атеросклероз, ХПБ 3-й ст. и выше и т. д.), способных негативно повлиять на течение раннего и отдаленного посттрансплантационных периодов.

Почти половина пациентов с предтрансплантационным СД 2-го типа нуждалась в неотложном выполнении ТС, включая 23,8% с предтрансплантационной МПК методом периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации (ВА ЭКМО), что могло негативно повлиять на течение периоперационного периода и стать фактором риска неблагоприятного исхода в ранние сроки после трансплантации.

Выявленной особенностью гемодинамического статуса реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа явилось достоверно частое (больше в 2,3 раза) развитие постперфузионной сосудистой недостаточности, что потребовало более частого назначения лекарственных препаратов с вазопрессорным действием (допамин, адреналин, норадреналин), а также более частого применения патогенетически-обоснованного метода ее коррекции метиленовым синим как ингибитором гиперпродукции эндогенного оксида азота (NO) путем подавления активности как эндотелиальной, так и индуцибельной изоформ NO-синтазы. Возможным объяснением столь частого развития постперфузионной сосудистой недостаточности у данной категории реципиентов сердца стало наличие предсуществующей эндотелиальной дисфункции и нарушение активности NO-синтазы с дисрегулировкой системного сосудистого тонуса на фоне СД. Кроме того, развитие постперфузионных нарушений системного сосудистого тонуса связывают с наличием ожирения, которое сопровождается персистирующим воспалительным состоянием с повышенной активностью провоспалительных цитокинов и повышенной секрецией печенью воспалительных белков острой фазы (например, С-реактивный белок). В проведенном нами исследовании в группе реципиентов с предтрансплантационным СД 2-го типа доля реципиентов с ожирением была достоверно больше (35% против 20,1% ($p = 0,004$)).

Отличительной особенностью реципиентов группы СД 2-го типа была в 2,2 раза большая ($p = 0,045$) потребность в реторакотомии в связи с большим ($p = 0,038$) объемом послеоперационной кровопотери, что, возможно, было связано с более ($p = 0,041$) выраженной тромбоцитопенией, гипопротеинемией и более ($p = 0,016$) низкими значениями протромбинового индекса, как возможными отражениями более значимых нарушений системы сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев системы гемостаза у больных с СД 2-го типа.

Несмотря на отсутствие различий в частоте применения МПК в раннем посттрансплантационном периоде, напряженности симпатомиметической терапии и длительности послеоперационной ИВЛ, у реципиентов основной группы наблюдались более выраженные проявления полиорганной недостаточности, преимущественно почечно-печеночной, а также в 1,9 раза чаще был послеоперационный делирий и в 1,6 раза чаще применялась заместительная почечная терапия. Вместе с тем, как показало исследование, вышеперечисленные факты не оказали негативного влияния на продолжительность послеоперационного лечения реципиентов с СД2 в условиях ОРИТ и госпитальную летальность. В обеих исследуемых группах ведущей причиной смерти являлся синдром полиорганной недостаточности.

В исследовании не было выявлено достоверного негативного влияния предтрансплантационного СД 2-го типа на прогрессирование трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий в посттрансплантационном

периоде, также как и на частоту возникновения и выраженность БКАПС. Наличие предтрансплантационного СД 2-го типа негативно не повлияло на частоту и выраженность БКАПС, что также выявлено и в других исследованиях.

В посттрансплантационном периоде у реципиентов сердца основной группы были больше выражены проявления полиорганной недостаточности и частота инфекционных осложнений (более высокий уровень билирубина, трансаминаз, прокальцитонина). Этим обусловлено достоверно более частое применение у реципиентов основной группы методов заместительной почечной терапии, а именно продленной вено-венозной гемофильтрации. У скомпрометированной группы реципиентов в посттрансплантационном периоде применялось более раннее в сравнении с контрольной группой начало заместительной почечной терапии.

Достигнутый в настоящем исследовании показатель госпитальной выживаемости (91,2%) у реципиентов можно считать удовлетворительным и соответствующим среднестатистическим показателям по отдельным трансплантационным центрам или многоцентровым регистрам. Показатели ранней и отдаленной выживаемости у реципиентов с отсутствием и наличием СД 2-го типа были сопоставимы, что указывает на то, что при правильном отборе реципиентов и выборе оптимальной тактики их ведения в посттрансплантационном периоде достигается высокая результативность ТС даже у реципиентов с высоким риском ранних и отдаленных осложнений.

Таким образом, при правильном отборе пациентов и выборе оптимальной тактики их персонализированного ведения в посттрансплантационном периоде наличие предтрансплантационного СД 2-го типа не оказывает отрицательного влияния на ранние и отдаленные результаты ТС.

Выводы

1. В период с 2011-го по 2018 г. в общем числе выполняемых трансплантаций ежегодная доля трансплантаций сердца у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа возросла в 2,6 раза (с 4,9% до 12,9% в год) и в среднем составила 9,0%.
2. По сравнению с когортой реципиентов без предтрансплантационного нарушения углеводного обмена реципиенты с сахарным диабетом 2-го типа на момент выполнения трансплантации сердца были старше ($p < 0,05$) по возрасту и имели больший ($p < 0,05$) вес, индекс массы тела и в 1,8 раза чаще ($p < 0,05$) ишемическую болезнь сердца (65,0% против 36,5%) как причину терминальной сердечной недостаточности, а также более ($p < 0,05$) выраженные гемодинамические проявления предтрансплантационной легочной гипертензии. Наличие в 3,2 раза чаще ($p < 0,05$) сопутствующей артериальной гипертензии

(17,5% против 5,5%), в 5,3 раза – дисциркуляторной энцефалопатии (13,8% против 2,6%), в 11,5 раза – мультифокального атеросклероза (13,8% против 1,2%), в 8,1 раза – хронической болезни почек 3-й стадии и более (11,3% против 1,4%), в 5,2 раза – немедикаментозно-индуцированного гипотиреоза (8,8% против 1,7%) явилось отражением более выраженной предтрансплантационной коморбидности данной категории реципиентов сердца.

3. Сердечные доноры при трансплантации сердца реципиентам с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа и без такового, несмотря на наличие достоверных различий по отдельным характеристикам, не различались.
4. Ранний послеоперационный период у реципиентов сердца с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа характеризовался более частым развитием постперфузионной сосудистой недостаточности, более выраженными проявлениями почечной дисфункции с большей ($p = 0,003$) потребностью в заместительной почечной терапии (45,0% против 27,9%), а также более выраженной гипергликемией и потребностью в более значимой и пролонгированной инсулинотерапии.
5. Наличие предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа достоверно не повлияло на частоту развития отторжения сердечного трансплантата, ранних и отдаленных инфекционных и неинфекционных осложнений, включая прогрессирование трансмиссивного атеросклероза и болезнь коронарных артерий пересаженного сердца.
6. У реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа при отсутствии достоверного влияния на частоту развития острого клеточного отторжения протокол иммуносупрессивной терапии, включавшей ингибитор кальциневрина такролимус, обеспечивал в 6,3 раза меньшую частоту развития антитело-обусловленного отторжения по сравнению с ингибитором кальциневрина циклоспорин.
7. Ранняя выживаемость у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа и без такового составила соответственно 91,2% и 91,6%, отдаленная выживаемость – 75,0% и 75,5%.

Практические рекомендации

1. Высокая распространенность сахарного диабета 2-го типа среди пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями повышает вероятность его наличия у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, в том числе нуждающихся в выполнении трансплантации сердца.
2. При планировании трансплантации сердца у пациентов с терминальной сердечной недостаточностью и сопутствующим сахарным диабетом 2-го типа необходимо учитывать риск возникновения инфек-

ционных и неинфекционных диабет-ассоциированных осложнений в ранние и отдаленные сроки после трансплантации, что предъявляет повышенные требования к их предтрансплантационной подготовке и посттрансплантационному ведению.

3. Наличие предсуществующего сахарного диабета 2-го типа, в том числе требующего применения инсулинотерапии, не должно являться абсолютным противопоказанием для выполнения трансплантации сердца у пациентов с терминальной сердечной недостаточностью при отсутствии значимого и не поддающегося коррекции необратимого поражения органов-мишеней.
4. В лист ожидания трансплантации сердца следует включать пациентов с сопутствующим сахарным диабетом в отсутствие клинически значимого поражения органов-мишеней и прогнозируемым неосложненным течением раннего и отдаленного посттрансплантационного периодов.
5. При подготовке и выполнении трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа необходимо учитывать их повышенную коморбидность и более частое наличие клинически значимой сопутствующей патологии: более старший возраст, большая доля реципиентов с ожирением, артериальная гипертензия, мультифокальный атеросклероз со стенотическим поражением брахиоцефальных артерий и артерий нижних конечностей, дисциркуляторная энцефалопатия, хроническая болезнь почек 3-й ст. и выше, мочекаменная болезнь, немедикаментозно-индуцированный гипотиреоз.
6. Частое сочетание предтрансплантационного сахарного диабета с хронической болезнью почек разной степени выраженности обуславливает более высокую потребность в заместительной почечной терапии в ранние сроки после трансплантации сердца, что необходимо учитывать при планировании и организации лечебного процесса.
7. Трансплантацию сердца у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа желательно выполнять от доноров без расширенных критериев с целью уменьшения риска развития ранней дисфункции сердечного трансплантата и осложненного течения послеоперационного периода.
8. Наличие предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа не оказывает отрицательного влияния на характер восстановления начальной функции сердечного трансплантата. Более частое развитие постперфузионной сосудистой недостаточности у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа обуславливает большую потребность в применении метиленового синего и норадреналина.

9. Большая частота выполнения рестернотомии в ранние сроки после трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа повышает требования к хирургическому и медикаментозному гемостазу.
10. В 2 раза более частое развитие острого послеоперационного психоза у реципиентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа требует профилактики его возникновения и своевременного начала лечения.
11. При ведении реципиентов сердца с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа необходимо учитывать более высокую потребность и более длительные сроки применения инсулинотерапии.
12. У реципиентов сердца с плохо контролируемой гликемией и небольшим риском острого отторжения сердечного трансплантата на фоне удовлетворительного иммунологического статуса циклоспорин следует считать препаратом выбора для иммуносупрессивной терапии, как обладающим менее выраженными диабетогенными свойствами.
13. Несмотря на свое диабетогенное действие, у реципиентов сердца с сопутствующим сахарным диабетом 2-го типа и высоким риском отторжения сердечного трансплантата предпочтительнее применение ингибитора кальциневрина такролимуса.
14. Обязательное включение в схему посттрансплантационной медикаментозной поддержки ангиопротективной терапии нивелирует потенциальное негативное влияние предтрансплантационного сахарного диабета 2-го типа как на прогрессирование трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий, так и на развитие и тяжесть болезни коронарных артерий пересаженного сердца.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Попцов В.Н., Спирина Е.А., **Золотова Е.Н.** Результативность трансплантации сердца у реципиентов с предсуществующим сахарным диабетом / Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов, 17–19 сентября 2018 года, г. Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – № 20. – С. 6–207.
2. Попцов В.Н., **Золотова Е.Н.** Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – № 22 (1). – С. 120–126.
3. Попцов В.Н., Спирина Е.А., Устин С.Ю., Масютин С.А., Догонашева А.А., Воронков В.Ю., **Золотова Е.Н.**, Скокова А.И. Трансплантация донорского сердца с гипертрофией миокарда левого желудочка 1,5 см и более // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – № 21 (1). – С. 7–16.

4. Poptsov V.N., Spirina E., Dogonasheva A., **Zolotova E.** Five years' experience with a peripheral veno-arterial ecmo for mechanical bridge to heart transplantation // Journal of Thoracic Disease. – 2019. – Vol. 11 (Suppl 6). – P. 889–901.
5. Попцов В.Н., Спирина Е.А., Пчельников В.В., Хатуцкий В.М., Алиев Э.З., Воронков В.Ю., Насипова Л.Р., Епремян А.С., **Золотова Е.Н.**, Скокова А.И., Агасян П.М. Трансплантация сердца от доноров, перенесших сердечно-легочную реанимацию // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – № 21 (2). – С. 23–30.
6. Попцов В.Н., Спирина Е.А., **Золотова Е.Н.**, Сибякина А.А. Трансплантация сердца у пациентов с предтрансплантационным сахарным диабетом 2-го типа / Материалы IV Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – № 21. – С. 5–204.
7. Попцов В.Н., Спирина Е.А., Захаревич В.М., Колоскова Н.Н., Ухренков С.Г., Устин С.Ю., Масютин С.А., Хатуцкий В.М., Воронков В.Ю., Алиев Э.З., Догонашева А.А., **Золотова Е.Н.**, Скокова А.И., Агасян П.М. Трансплантация сердца от доноров с расширенными критериями / Материалы IV Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – № 21. – С. 5–204.
8. Попцов В.Н., Спирина Е.А., **Золотова Е.Н.**, Сибякина А.А. Влияние дотрансплантационной почечной дисфункции на результативность трансплантации сердца у реципиентов сердца с сахарным диабетом 2-го типа / Материалы IV Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – № 21. – С. 5–204.
9. Попцов В.Н., Спирина Е.А., **Золотова Е.Н.**, Захаревич В.М., Колоскова Н.Н., Можейко Н.П., Сибякина А.А., Поз Я.Л., Скокова А.И., Боронова В.В., Воронков В.Ю., Хатуцкий В.М. Трансплантация сердца у реципиентов с сахарным диабетом 2-го типа // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – № 22 (4). – С. 8–19.

Список сокращений

HbA1c	– гликированный гемоглобин
ISHLT	– International Society for Heart and Lung Transplantation) – Международное общество трансплантации сердца и легких
АД	– артериальное давление
БКАПС	– болезнь коронарных артерий пересаженного сердца
ВА ЭКМО	– вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация
ЗПТ	– заместительная почечная терапия
ИМТ	– индекс массы тела
ЛГ	– легочная гипертензия

ЛСС	– легочное сосудистое сопротивление
МНО	– международное нормализованное отношение
МПК	– механическая поддержка кровообращения
ОПП	– острое повреждение почек
ПВВГФ	– продленная вено-венозная гемофильтрация
ПИ	– протромбиновый индекс
ППСН	– постперфузионная сосудистая недостаточность
СД	– сахарный диабет
СИ	– сердечный индекс
ТПГ	– транспульмональный градиент
ТС	– трансплантация сердца
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность

РАЗРАБОТКА БИОПРОТЕЗА КЛАПАНА СЕРДЦА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ УСТАНОВКИ ПО ТИПУ «ПРОТЕЗ В ПРОТЕЗ»

Клышников К.Ю., Кудрявцева Ю.А.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ).

Актуальность темы исследования

Хирургическое протезирование является на сегодняшний день рутинной процедурой лечения приобретенных клапанных пороков сердца, которому ежегодно подвергаются 280 тыс. пациентов по всему миру [Kiyose A.T. et al., 2019]. Среди двух принципиальных типов конструкций [Diaz R. et al., 2019], применяемых для данного вмешательства в России, преобладающее большинство занимают механические протезы клапанов, в то время как применение биопротезов составляет лишь 20–25% [Бокерия Л.А. и др., 2019]. По-видимому, риск структурного разрушения биологических протезов [Борисов И.А. и др., 2012; Костюнин, А.Е. Резвова М.А., 2019] в отдаленном периоде по-прежнему представляет серьезный негативный фактор для хирурга, определяющего тактику лечения и не желающего подвергать пациента риску повторного вмешательства. Особенно актуально данная тенденция прослеживается для «серых» зон клинических рекомендаций – возраста 60–65 для аортальной и 65–75 лет для митральной позиции, которые позволяют имплантировать оба типа протезов [Рабочая группа по ведению пациентов с клапанной болезнью сердца Европейского общества кардиологов (ЕОК, ESC) и Европейской ассоциации кардио-торакальной хирургии (EACTS), 2018]. Крупные исследования и метаанализы применения биологических и механических протезов показывают, что, несмотря на отсутствие различий в летальности [Hammermeister et al., 2000; Stassano et al., 2009; Рабочая группа по ведению пациентов с клапанной болезнью сердца Европейского общества кардиологов (ЕОК, ESC) и Европейской ассоциации кардио-торакальной хирургии (EACTS), 2018], существует статистически значимое увеличение риска реоперации по замене кла-

пана при выборе биологических протезов [Diaz et al., 2019; Head et al., 2017; Kiyose et al., 2019]. При этом состояние возрастных пациентовотягощено сопутствующими патологиями, которые в целом ухудшают прогноз открытых вмешательств [Зыбин & Шумаков, 2013; Семеновский et al., 2014]. По данным литературы (12 исследований с общим числом пациентов 7603), к 10 годам у 6,0% биопротезов выявляют гемодинамически значимую дисфункцию, требующую повторного вмешательства, к 15 годам – у 19,3% и у 48,0% – к 20 годам [Aupart M.R et al., 2006; Auremma S. et al., 2006; Eichinger W.B. et al., 2008; Benhameid O. et al., 2008; Milano A.D et al., 2012; Joshi V. et al., 2014; Sénage T. et al., 2014; Anselmi A. et al., 2014; Amabile N. et al., 2014; Matsumoto Y. et al., 2015; Bourguignon T. et al., 2015; Bourguignon T. et al., 2016]. Лидирующими причинами дисфункций являются дегенерация створчатого аппарата и кальцификация, которые дополнительно усугубляются сопутствующими заболеваниями [Maganti M. et al., 2009; Kostyunin A.E. et al., 2019]. Основным методом коррекции возникающей недостаточности клапана является повторная имплантация протеза [Стасев А.Н. и др., 2015; Леонтьев С.А. и др., 2017], которая ассоциирована с достоверно большим риском интраоперационной летальности: для позиции клапана аорты 4,6% против 2,2% – для первичного протезирования, риском возникновения инсультов 1,9% против 1,4% [Kaneko T. et al., 2015]. Аналогичное вмешательство в случае репротезирования митрального клапана сопряжено с еще большим риском летальности – до 15% и возвратом значимой регургитации на клапане в 30% случаев в срок до 6 месяцев [Balsam L.B. et al., 2010].

Потенциальным решением прикладной проблемы высокой травматичности и длительности реопераций клапанов сердца является малоинвазивная техника использования TAVR [Nuis R.-J. et al., 2013; Имаев Т.Э. и др., 2016; Имаев Т.Э. и др., 2019; Ganyukov V.I. et al., 2020] и бесшовных конструкций [Dohmen P.M. et al., 2016; Соколов В.В. и др., 2019], а также некоторых «классических» каркасных протезов [Барбараш Л.С. и др., 2015], имплантируемых по типу «протез в протез» (также описанному как «valve-in-valve» и «valve-on-valve» [Рогулина Н.В., Халивопуло И.К., 2019]. Благодаря меньшей летальности (<1,0% против 5,2%, $p = 0,06$), периоду реабилитации (в среднем, 6,6 против 9,7 дня; $p < 0,01$) и частоте внутригоспитальных осложнений (14,1% против 25,4%, $p = 0,018$) [Malik A.H. et al., 2020] данные технологии стали альтернативой для повторной операции в случае дисфункции биопротеза. Особенностью таких вмешательств является малоинвазивная имплантация нового протеза в каркас несостоятельного протеза с дисфункцией – методом «протез в протез», которая обеспечена за счет стентоподобной конструкции [Клышников К.Ю. и др., 2017]. По-видимому, концепция стента является наиболее перспективной с позиции минимизации операционной травмы и возможности быть ус-

тановленной внутрь опорного каркаса предыдущего дисфункционального протеза.

Важной характеристикой всех малоинвазивных имплантаций в РФ, прежде всего транскатетерных, является низкая частота их клинического применения – много ниже потребности в подобных вмешательствах [Алекян Б.Г. и др., 2018], в особенности для процедуры «протез в протез» вследствие существенной стоимости и высоких требований к квалификации хирурга. Кроме того, использование транскатетерного подхода имеет серьезные недостатки, связанные с отсутствием прямого доступа хирурга к месту имплантации – невозможности иссечь створчатый аппарат, удалить конгломераты кальция. Решением подобной проблемы может стать обоснование и разработка протеза, предназначенного для открытой хирургической имплантации с бесшовным способом фиксации, для установки по типу «протез в протез» [Клышников К.Ю. и др., 2017]. Использование такого подхода позволяет объединить преимущества открытых операций – удаление крупных элементов кальция и использование надежных конструктивных решений и материалов, применяемых в «классических» каркасных биопротезах, с преимуществами TAVR – меньшей травматичностью и отсутствием необходимости шовной фиксации протеза.

В связи с этим разработка и обоснование конструкции нового протеза клапана сердца для открытой процедуры «протез в протез» с бесшовным способом имплантации является актуальной задачей современной кардиохирургии.

Степень разработанности темы исследования

Задача обоснования новой конструкции протеза клапана сердца является комплексной и требует системного анализа безопасности и функциональности как отдельных его компонентов, так и медицинского устройства в целом. В современной литературе описаны отдельные работы, посвященные исследованию стентов и стентоподобных каркасов: их конструкции [Noad R.L. et al., 2014; Rotman O.M. et al., 2018; Schmidt T. et al., 2018], анализу функциональных свойств [Mummert J. et al., 2013; Tzamtzis S., 2013], особенностей имплантации [Auricchio F. et al., 2014; Bailey J. et al., 2016; Bianchi M. et al., 2016; Gunning P.S. et al., 2014], циклостойкости [Martin C. et al., 2017]. Однако данные работы основаны на той или иной определенной геометрии стентового протеза, зачастую уже применяемого клинически, и не описывают системных подходов к их проектированию. При этом показано, что именно конструктивные особенности при клиническом применении подобных стенто-вых протезов ассоциированы с рядом осложнений [Sharifulin R.M. et al., 2018; Овчаренко Е.А., 2014].

Немаловажным элементом конструкции протеза является створчатый аппарат и дополнительные компоненты – облицовка, манжета, напрямую влияющие на эффективность запирающей функции клапана (его гидродинамическую производительность) и безопасность – наличие транс- или парапротезной утечки. Ассоциация безопасной работы данных элементов с ближайшей и долгосрочной выживаемостью реципиентов протезов клапанов сердца отражена в литературе [Arnold S.V. et al., 2019; Nagar A. et al., 2020; Mahidhar R. et al., 2016]. Кроме того, показано, что области разрыва в биопротезах клапанов сердца коррелируют с областями высоких напряжений растяжения и изгиба створок [Hilbert S.L. et al., 1986; Sacks M.S. et al., 2002]. Концентрация высоких напряжений в створке может непосредственно ускорять структурное усталостное повреждение ткани либо инициировать кальцификацию биоматериала, т. е. приводить к несостоятельности протеза [Sharifulin R.M. et al., 2018; Барбараш Л.С., 2018]. Предположительно конструкции протезов клапанов, обладающие более низкими напряжениями в створках, демонстрируют более высокую циклоустойкость – свободу от структурной дисфункции [Travaglino S., 2019]. Тем не менее подходы к проектированию, в особенности для биологического створчатого аппарата, описаны слабо [Abbasi M. et al., 2020; Rankin J.S. et al., 2016; Travaglino S. et al., 2019] и малоприменимы для прикладной реализации.

Конструкция протеза представляет собой единую комплексную систему стенового каркаса, биологических створок, облицовки, манжеты, поэтому оценивать его безопасность и функционирование необходимо разносторонне и системно [Фадеев А.А., 2013]. Методы оценки и требования по безопасности протезов клапанов сердца в достаточной мере описаны и структурированы [Bozkurt S., 2017; Rotman O.M., 2018; Susin F.M., 2017; Богачев-Прокофьев А.В., 2018; Кудрявцева Ю.А., 2015; Фадеев А.А., 2013], а кроме того, регламентированы государственными стандартами – CE-Mark для Европы, ISO и требованиями FDA для США и ГОСТ – для РФ [ГОСТ ISO 13485-2017]. Однако важная особенность разрабатываемой конструкции – необходимость функционирования в составе комплекса «протез + протез» требует отдельных, специфических тестов, которые должны оценивать нестандартные для типовых протезов характеристики [Богачев-Прокофьев А.В., 2018]. К ним можно отнести надежность фиксации в просвете протеза с дисфункцией [Hensey M., 2020], изменение гидродинамических показателей в результате стенозирующего эффекта [Evin M., 2016; Sathananthan J., 2019], разработку системы подбора типоразмера для обеспечения работы створчатого аппарата. Подобные требования описаны в литературе в единичных работах – как экспериментальных [Богачев-Прокофьев А.В. и др., 2018], так и численного моделирования [Yaakovovich N., 2020], без системного подхода к проблеме. В связи с чем создание и апробирование достаточного комплекса испытаний медицин-

ского изделия для повторного протезирования клапанов сердца представляется важным этапом разработки.

Среди всех предварительных доклинических *in vitro* и *in silico* тестов наиболее ценным – валидирующим всю разработку, является испытание на живом организме экспериментального животного [Kheradvar A., 2017; Meuris B., 2002]. В целом существующие работы коллективов авторов описывают примеры и методики вмешательств на сердце и его клапанах в моделях животных – овцах [Grehan J.F., 2001; Wang Q., 2010; Zafar F., 2015], свиньях [Grehan J.F., 2000; Li D., 2007; Wendt D., 2013], в условиях открытых и малоинвазивных TAVR. Настоящая работа предполагает двухэтапное воспроизведение процедуры протезирования – первичного и повторного, отдаленного по времени, формируя таким образом полную модель репротезирования на модели овцы с использованием искусственного кровообращения. Такой подход впервые применяется в мировой практике и требует отдельной проработки протокола вмешательства, ведения и оценки результативности эксперимента.

Таким образом, все вышеизложенное – отсутствие в клинической практике специфического биопротеза для открытого повторного протезирования клапанов сердца, отсутствие системного подхода к проектированию, испытанию и валидации такого изделия – позволило сформулировать цель диссертационного исследования.

Цель исследования

Обосновать геометрию и функциональные характеристики биопротеза клапана сердца, предназначенного для имплантации по типу «протез в протез», а также систему его доставки.

Задачи исследования

1. Разработать и экспериментально обосновать пространственную геометрию опорного каркаса протеза клапана сердца по типу «протез в протез».
2. Разработать и обосновать пространственные модели створчатого аппарата и обшивки предполагаемого протеза клапана сердца.
3. Разработать технологию имплантации, оценить в эксперименте потенциальные риски предлагаемого подхода.
4. Оценить *in vivo* функциональные характеристики и эффективность имплантации разрабатываемого клапана сердца по типу «протез в протез».

Научная новизна исследования

1. Впервые разработана конструкция медицинского устройства, предназначенная для коррекции дисфункции биопротезов клапанов сердца при повторном оперативном вмешательстве по типу «протез в протез».
2. Разработана система доставки для имплантации биопротезов по типу «протез в протез».
3. Впервые проведена экспериментальная оценка инвазивности процедуры имплантации «протез в протез» в сравнении со стандартным хирургическим вмешательством при реоперации.

Практическая значимость работы

Разработана принципиальная конструкция медицинского устройства, предназначенного для проведения репротезирования несостоятельных протезов клапанов сердца по методике «протез в протез», обоснованы ее конструктивные и функциональные характеристики. Кроме того, разработана конструкция системы доставки биопротеза клапана для реализации бесшовной имплантации баллонным способом, проведена ее валидация в серии натурных испытаний и на модели крупного животного.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационного исследования явились труды отечественных и зарубежных авторов в области испытаний и проектирования медицинских изделий, а также отдельных материалов для их реализации. В рамках решения задач настоящей работы использовали комплекс *in silico*, *in vitro*, *in vivo* методов, включающих:

1. Твердотельное конечно-элементное численное моделирование, реализованное в среде инженерного анализа Abaqus/CAE.
2. Проведение постановочных натурных экспериментов с опытными образцами на универсальной испытательной машине Zwick/Roell – анализ прочности и жесткости компонентов системы.
3. Гидродинамическое исследование функции опытных вариантов створчатого аппарата в установке пульсирующего потока – модели левых отделов сердца Vivitro Labs, в условиях имитации нормы и патологии.
4. Постановочный натурный эксперимент имплантации предполагаемого протеза с использованием различных вариантов инструмента для имплантации и технологий в сравнительном аспекте на модели бычьего сердца.

5. Постановочный *in vivo* эксперимент оценки инвазивности процедуры имплантации «протез в протез» в сравнении со стандартным хирургическим вмешательством при реоперации на модели крупного животного (овцы) с оценкой постоперационной эффективности в отдаленном периоде.

Положения, выносимые на защиту

1. Баллоннорасширяемая конструкция опорного каркаса по типу стента, сочетающая вертикальные стойки с ячейками закрытого типа в приточной зоне и открытого типа – в выводной, итоговой высотой 20 мм, позволяет неравномерно распределять напряженно-деформированное состояние в зависимости от функционального назначения зон и обеспечивает ресурс усталостной прочности не менее 10^9 циклов.
2. Тубулярный створчатый аппарат с отношением высоты к диаметру в пропорции 7 : 10 из биологического материала – перикарда крупного рогатого скота – обеспечивает оптимальное функционирование в составе стентоподобной конструкции протеза клапана сердца с возможностью кримпирования до малого диаметра и достижения высоких гидродинамических показателей.
3. Технология бесшовной имплантации по типу «протез в протез» в условиях открытого кардиохирургического доступа, включающая кримпирование, введение устройства в каркас несостоятельного протеза и последующую индефляцию давлением не менее 4 атмосфер, обеспечивают надежную фиксацию без риска дислокации и низкий профиль итогового комплекса, не вызывающего обструкцию выводного отдела желудочка, что актуально для атриовентрикулярных позиций.
4. Использование технологии «протез в протез» в хроническом эксперименте на крупных животных демонстрирует гемодинамическое снижение геометрической площади отверстия и нарастание среднего транспротезного градиента с сохранением пропускной и запирающей функции в течение не менее шести месяцев без признаков дислокации и дисфункции, при существенном сокращении до двух раз времени ишемии миокарда во время процедуры.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных в работе результатов и выводов обеспечена достаточным количеством экспериментальных наблюдений, дизайном исследования, использованием высокоинформативных и современных методик, комплексным подходом к научному анализу с применением современных методов статистической обработки и программного компьютерного обеспечения, валидированного способа численного моделирования методом конечных элементов с верифицированными типовыми задачами, а также сравнением экспериментальных данных с литературными. Выводы, представленные в настоящей работе, не получили критических замечаний и были опубликованы в рецензируемых изданиях.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты работы внедрены в исследовательскую деятельность отдела экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», а также в производственную практику ЗАО «НеоКор» (Россия) в качестве материалов для регистрации и производства медицинского изделия.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 18 печатных работ, в том числе 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертационного исследования, а также входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова», в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 3 статьи в зарубежных научных изданиях, 4 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций. Получено 3 патента на полезную модель РФ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

В рамках проектирования и обоснования конструкции медицинского изделия – протеза клапана сердца, предназначенного для имплантации по типу «протез в протез» (рис. 1), а также системы его доставки, в настоящей работе использовали комплекс *in silico*, *in vitro*, *in vivo* методов.

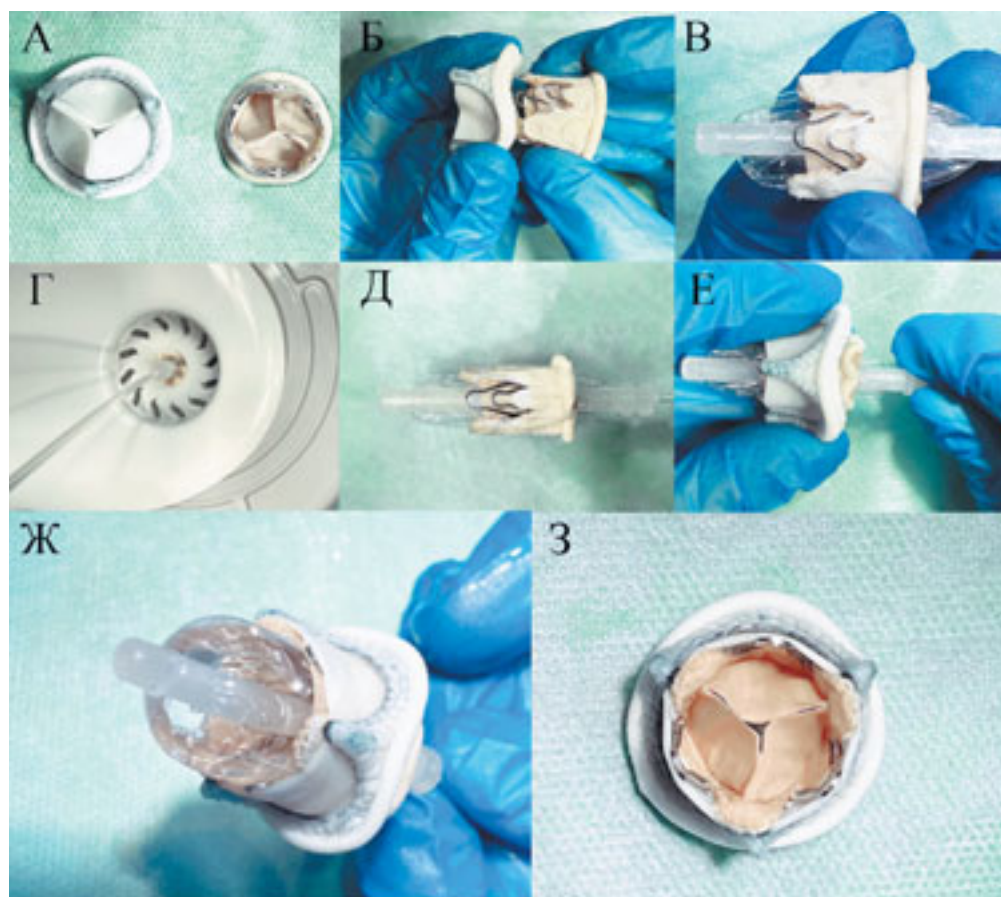


Рис. 1. Схема-пример выполнения методики «протез в протез», реализованная в настоящей работе: А – исходное состояние двух медицинских изделий: «классического» каркасного биопротеза «ЮниЛайн-23» и прототипа разрабатываемого устройства; Б – совмещение обоих биопротезов в исходном состоянии, для примера; В – разрабатываемый биопротез, внутрь которого помещен баллонный катетер; Г – сжатие комплекса «протез–баллон» до малого диаметра с помощью радиальной кримпирующей установки; Д – сжатый комплекс «протез–баллон» наружного диаметра 15 мм; Е – помещение сжатого экспериментального протеза внутрь каркасного биопротеза «ЮниЛайн-23»; Ж – наполнение баллонного катетера физиологическим раствором под давлением 4 атм. и придание конечной формы экспериментальному устройству; З – комплекс «протез в протез» в финальном состоянии

Твердотельное численное моделирование in silico

Основой всего процесса разработки и обоснования конструкции протеза стал набор численных методов. Моделирование проводили методом конечных элементов, анализируя механическое и биомеханическое поведение отдельных компонентов разрабатываемой конструкции, а также протеза клапана сердца в сборе. Прежде всего данный подход использовали для разработки и обоснования двух базовых компонентов стентоподобного протеза клапана сердца: конструкции опорного каркаса и его створчатого аппарата. Ведущей концепцией при проектировании в обоих случаях стал поэтапный анализ – первичное тестирование серии концептов, отбор только наиболее перспективных вариантов и последующее их детальное исследование. Так, при разработке опорного каркаса исходному анализу подвергали три трехмерные компьютерные модели, сконструированные на основе анализа литературы и аналогичных изделий (рис. 2). Данные модели исследовали в численном эксперименте придания конечной формы – перехода из исходного 15 мм к финальному диаметру 28 мм.

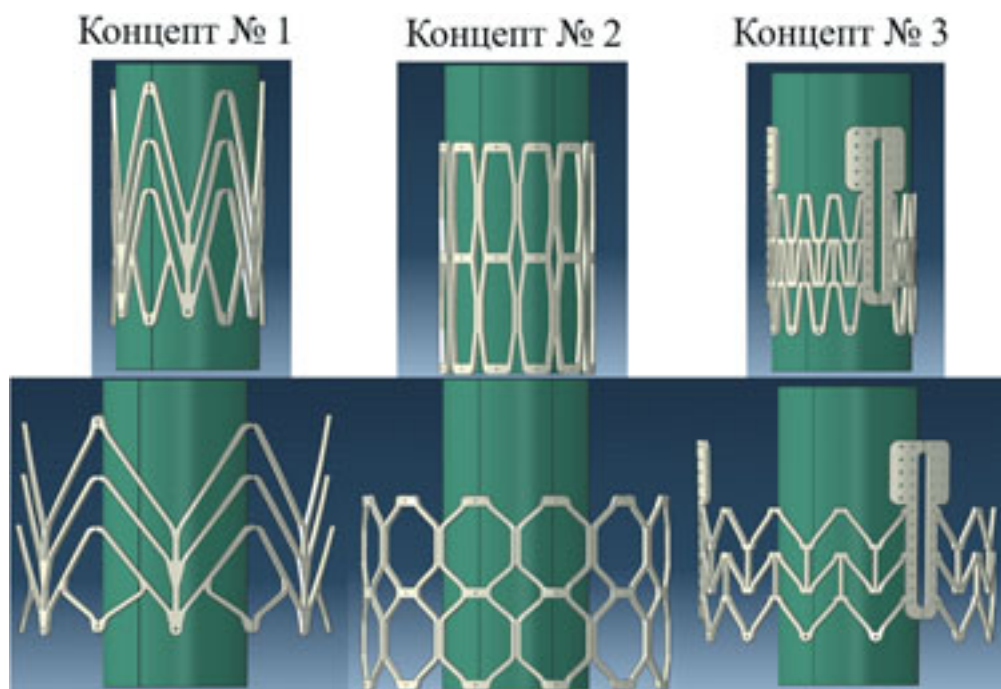


Рис. 2. Три потенциальных концепта стентоподобного опорного каркаса, среди которых выбирали оптимальные на основе критерия обеспечения придания имплантационного состояния, все концепты представлены в исходном (15 мм) и одном из вариантов финального состояния (28 мм)

После этого наиболее перспективный концепт исследовали *in silico* с позиции усталостной прочности на основе диаграмм Гудмана при имитации циклической нагрузки воздействия пульсового аортального давления, характерного при приложении 200 млн циклов переменной нагрузки, аналогичной 5 годам функционирования в организме пациента.

Геометрия второго важного компонента разрабатываемого протеза – створчатого аппарата была спроектирована и исследована аналогичным образом: проведены первичные численные тесты перечня потенциальных материалов и форм с последующим, более детальным анализом наиболее перспективных вариантов. Основой для моделирования стал тубулярный дизайн, широко применяемый в практике конструирования протезов клапанов сердца [Gauvin R. et al., 2013; Rotman O.M. et al., 2018]. Первичным этапом имплантации всего разрабатываемого протеза стало его сжатие до предимплантационного состояния (15 мм в диаметре) для введения в целевую область и последующее расширение до рабочего диаметра. Исходя из этого, было проведено численное моделирование сжатого состояния трех моделей коммерчески доступных биологических материалов, представляющих собой ксеноперикард крупного рогатого скота, стабилизированный глутаровым альдегидом или диглицидиловым эфиром этиленгликоля. Моделями материалов для тестирования стали: лоскут «БиоЛаб-ПП» (НЦССХ им. Н.А. Бакулева, г. Москва); «Кардиоплант КП/Т» (ООО «Кардиоплант», г. Пенза); «КемПериплас-Нео» (ЗАО «НеоКор», г. Кемерово). Исследование проводили методом конечных элементов, имитируя двухмерное сжатие моделей. В последующей расширенной серии численного анализа оценивали особенности функционирования отобранных материалов в составе трехлепестковой модели створчатого аппарата. В эксперименте определяли оптимальные пропорции «высота : диаметр» для начальных моделей с соотношением 5 : 10 – 10 : 10 в двух тестах: приложении гипотензивного (50 мм рт. ст.) и нормотензивного (120 мм рт. ст.) давления при запирации.

Стендовые испытания *in vitro*

Исходя из результатов проведенных численных экспериментов были прототипированы отдельные компоненты разрабатываемого биопротеза – опорный каркас, изготовленный методом лазерной резки из медицинской нержавеющей стали AISI316L (N = 10), а также створчатый аппарат из ксеноперикардального лоскута. После чего описанные компоненты и прототипы протезов клапана на их основе подвергали серии стендовых натурных испытаний для оценки безопасности и эффективности применения.

1. Анализ физико-механических характеристик. В процессе производственной подготовки опорный каркас протеза могут подвергать дополнительной термической обработке, релаксирующей напряжения в материале, однако такое воздействие потенциально снижает жесткость каркаса, что

сказывается на его устойчивости к деформациям в процессе имплантации. Для оценки вклада данного этапа в надежность функционирования конструкции проводили *in vitro* исследование осевой жесткости прототипов опорного каркаса, для которых этап термообработки был включен и для контрольных – немодифицированных образцов. Исследование осуществляли на универсальной испытательной машине Zwick Z50, сжимая образцы в осевом направлении на 50% от исходного диаметра (на 13,5 мм).

2. Исследование гидродинамических характеристик. В работе представлены результаты оценки функциональных характеристик созданных прототипов протеза с позиции основного назначения медицинского устройства – обеспечения удовлетворительных гемодинамических показателей. В ходе исследований на установке пульсирующего потока Vivitro Labs были оценены основные количественные характеристики производительности: эффективная площадь отверстия, транспротезный градиент, фракция регургитации, а также определены условия оптимального сайзинга.

3. Оценка способа баллонной бесшовной имплантации. Подтвержденные функциональные характеристики прототипов конструкции в сборе позволили перейти к отработке потенциального способа баллонной бесшовной имплантации *in vitro*. Тестирование проводили на двух экземплярах бычьего сердца с полным воспроизведением процедуры повторного протезирования по типу «протез в протез» для позиции клапана аорты и митральной позиции. Для этого в соответствующую область имплантировали «классический» каркасный биопротез «ЮниЛайн-21» или «ЮниЛайн-30» по стандартной технологии с использованием П-образных швов. Затем, воспроизводя последовательность предоперационной подготовки и саму процедуру по типу «протез в протез», имплантировали экспериментальную конструкцию.

Исследование на модели крупного животного in vivo

Серия *in silico* и *in vitro* работ продемонстрировала успешные результаты с позиции безопасности бесшовной фиксации, долговечности и гидродинамической эффективности разрабатываемого протеза. В связи с чем проект перешел на стадию доклинического исследования на крупных животных, как на наиболее важный аспект оценки нового клапанного протеза, наглядно валидирующий все предыдущие этапы проектирования и разработки. В качестве модельного животного для проведения вмешательства были использованы беспородные здоровые овцы весом 44–48 кг ($n = 3$). Животным проводили двухэтапную отсроченную имплантацию исследуемого устройства: 1) первичное протезирование митрального клапана с использованием клинических атриовентрикулярных биопротезов «ЮниЛайн» и 2) повторное протезирование по типу «протез в протез»

через четыре недели после первого вмешательства. В ходе данного этапа оценивали особенности процедуры с позиции обеспечения бесшовной имплантации протеза, скорости, травматичности вмешательства. А также постимплантационные количественные результаты гемодинамики методом трансторакальной эхокардиографии – эффективную площадь отверстия, максимальный и средний транспротезный градиенты, среднюю линейную скорость кровотока.

ТВЕРДОТЕЛЬНОЕ ЧИСЛЕННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ *IN SILICO*

Опорный каркас

В ходе первичного этапа *in silico* оценки функционала концептов стен-топодобного опорного каркаса протеза клапана показано, что амплитуды напряжения по Мизесу в узлах Концепта № 3 составили 560,6 МПа, приближающиеся к пределу прочности материала (670 МПа), что можно считать высокими значениями, т. к. несет риск разрушения узлов конструкции при изменении диаметра, особенно более 28 мм. Для сравнения, Концепты № 1 и 2 продемонстрировали умеренный рост напряжения до максимума 406,6 и 367,3 МПа соответственно. При этом радиальная сила, необходимая для придания финальной формы каркасам, составила для Концепта № 2 – 5,78 Н, что значительно усложняет требования для проектирования других компонентов системы репротезирования – прежде всего баллонного катетера. Для Концептов № 1 и 3 данный показатель составил умеренные значения – 4,05 и 2,97 Н.

Такая первичная оценка позволила перейти к детальному комплексному анализу наиболее перспективного Концепта – № 1 (рис. 3), для которого численно исследовали два основных напряженно-деформированных состояния каркаса, возникающих в процессе его жизненного цикла: однократную деформацию во время процедуры имплантации и последующее длительное воздействие давления в цикле «систола-диастола». Для I состояния опорному каркасу придавали рабочую – имплантированную геометрию с помощью имитации баллонной технологии, изменяя его исходный диаметр 15 мм до конечного в широком диапазоне 19–33 мм. Для II состояния – циклической нагрузки – имитировали воздействие пульсового аортального давления, характерного при приложении 200 млн циклов переменной нагрузки, аналогичной 5 годам функционирования в организме пациента.

В ходе моделирования процесса имплантации (I состояние) опорного каркаса выявлен существенный рост механических напряжений в вершинах ячеек с образованием упругопластических шарниров. Макси-

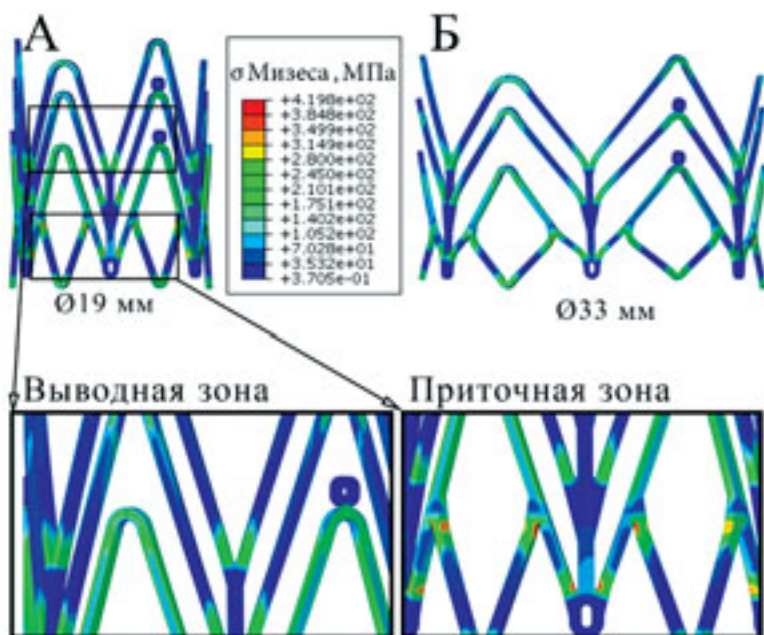


Рис. 4. Результаты моделирования двух состояний наиболее перспективного концепта опорного каркаса № 1:
А – пример распределения и эпюр напряжения по Мизесу в узлах модели типоразмера 19 мм; Б – то же, для типоразмера 33 мм

Створчатый аппарат

Показано, что сжатие выбранных трехмерных моделей коммерческих перикардиальных лоскутов сопровождается ростом напряжения по Мизесу в местах формирования перегибов. При этом для образца «Кардиоплант КП/Т» амплитуда напряжения составила 40,9 МПа, превышая предел прочности материала в 1,6 раза, что свидетельствует о потенциальном его разрушении (рис. 5). Для моделей материала «БиоЛаб-ПП» и «Кем-Периплас-Нео» напряжения составили 8,40 (предел прочности 12,45) и 5,35 (предел прочности 11,4) МПа соответственно, что является безопасными значениями при сжатии.

Стоит предполагать, что материал, демонстрирующий области разрушения, является неподходящим для применения в качестве створчатого материала, т. к. не сможет обеспечить безопасное сжатие протеза до предимплантационного состояния (рис. 1, Г, Д). Таким образом, на следующий этап – детального исследования, перешли только две модели материала, продемонстрировавшие удовлетворительные результаты моделирования: «БиоЛаб-ПП» и «КемПериплас-Нео».

Качественно показано, что не все варианты запирания створчатого аппарата могут обеспечивать удовлетворительную функцию – начальные

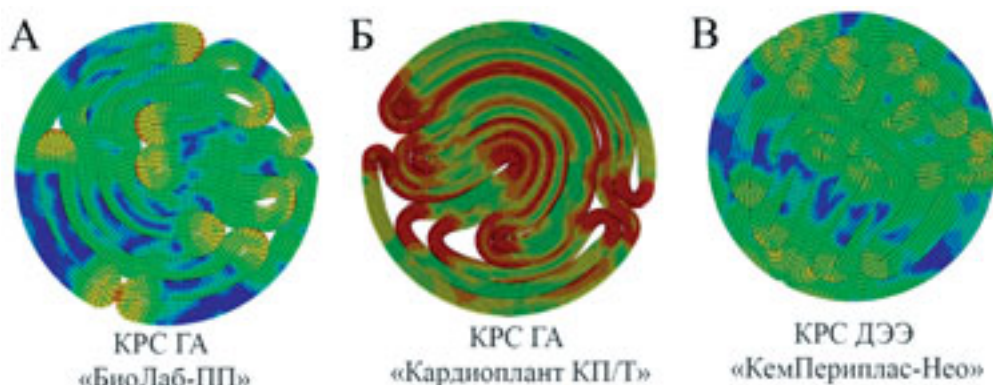


Рис. 5. Напряжение по Мизесу в эксперименте компьютерного моделирования радиального сжатия исследованных ксеноперикардальных лоскутов: А – «БиоЛаб-ПП»; Б – «Кардиоплант КП/Т»; В – «КемПериплас-Нео»

модели 5 : 10 и 6 : 10 соотношения «высота : диаметр» (H/D) искажают форму створок за счет низкого расположения зоны коаптации (рис. 6). Пропорции 7 : 10 – 10 : 10 продемонстрировали более приемлемую форму с формированием достаточного контакта створок друг с другом. Количественно данная характеристика представлена площадью смыкания створок, определяемой как суммарная площадь вступивших в контакт конечных элементов в пересчете на одну створку. Для пропорции 6 : 10 с использованием материалов «БиоЛаб-ПП» и «КемПериплас-Нео» данный показатель составил 1,6 и 36,1 мм² соответственно, а для пропорции 7 : 10 – более

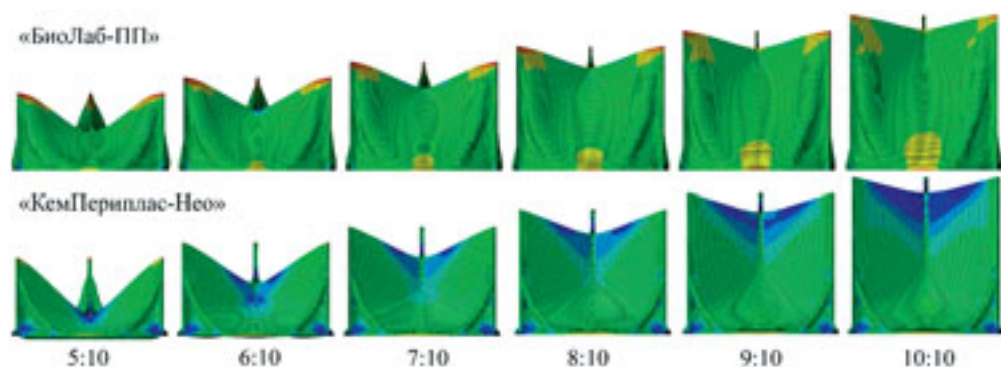


Рис. 6. Визуализация запираения моделей створчатого аппарата при различных соотношениях «высота : диаметр» – от 5 : 10 к 10 : 10 для моделей материалов «БиоЛаб-ПП» и «КемПериплас-Нео» для гипертензивного давления

значительные $6,3 \text{ мм}^2$ и $54,3 \text{ мм}^2$ даже в случае гипотензивного давления. Кроме того, на рис. 7 видно, что материалы качественно неодинаково отреагировали на прилагаемое давление. Для малых пропорций 5 : 10 и 6 : 10 створчатый аппарат из «БиоЛаб-ПП» не формировал полноценного замыкания, сохраняя центральное отверстие, что является неприемлемым с позиции формирования транспротезной регургитации, для материала «КемПериплас-Нео» подобных эффектов не наблюдали для всего исследованного диапазона «высота : диаметр».

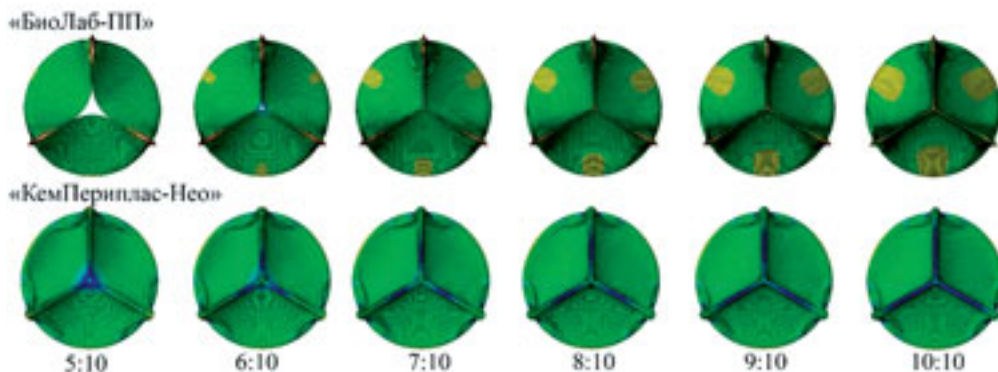


Рис. 7. Эпюры напряжения по Мизесу створчатого аппарата в соотношениях «высота : диаметр» – от 5 : 10 к 10 : 10 для моделей материалов «БиоЛаб-ПП» и «КемПериплас-Нео», вид сверху

Основываясь на совокупности результатов проведенного исследования, следует заключить, что наиболее подходящее соотношение высоты тубулярного створчатого аппарата бесшовно-имплантируемого биопротеза клапана аорты к его диаметру, исходя из принципа наименьшего профиля, составляет 7 : 10. Комплексный анализ представленных результатов демонстрирует в качестве более предпочтительного материала в данном случае ксеноперикардальный лоскут «КемПериплас-Нео», который в эксперименте обеспечил наибольшую площадь контакта и запираение для всех вариантов геометрии.

СТЕНДОВЫЕ ИСПЫТАНИЯ *IN VITRO*

Анализ физико-механических характеристик

Показано, что в зависимости от режимов термической постобработки опорных каркасов, разрабатываемый протез создает разную осевую жесткость. При приложении нагрузки на сжатие экспериментальные опорные каркасы после термообработки изменили свои упруго-деформативные

свойства в области обратимых деформаций до 4 мм – амплитуда силы составила 6,1 Н, для контроля – 6,95 Н. В области более значимых деформаций (свыше 4 мм) падение силы составило 1,4–1,9 Н, что можно считать чрезмерным по сравнению со значением 9,4 Н для контроля – падение на 14,9–20,2%. Таким образом, этап термообработки может оказать существенное негативное влияние на итоговые свойства основного несущего компонента протеза – его опорного каркаса, что может стать критичным для работы всего устройства.

Исследование гидродинамических характеристик

В исследовании показано, что прототипы биопротеза формируют средний транспротезный градиент в диапазоне 9,4–20,6 мм рт. ст. (рис. 8). Контрольные биопротезы, имитирующие состояние дисфункции – «классические» каркасные протезы «ЮниЛайн»-21, 23, 25, продемонстрировали схожие результаты: 9,5–19,4 мм рт. ст. Эффективная площадь отверстия, как интегральный показатель пропускной способности, составила в случае экспериментального протеза – 0,96–1,7 см² в зависимости от типоразмера, в случае контроля – 0,92–1,44 см². Наиболее показательной характеристикой в данном исследовании стала фракция регургитации – доля обратного заброса крови через закрытый протез. Для некоторых вариантов сайзинга «протез в протез» данная характеристика достигала 12,49–20,95% от фракции выброса, что является неудовлетворительным результатом, свидетельствующим о наличии транспротезной регургитации.



Рис. 8. Количественные характеристики работы биопротезов до и после имплантации – средний транспротезный градиент, эффективная площадь отверстия, группированные по исходным типоразмерам «ЮниЛайн»-21, 23, 25 мм

Качественно данные эффекты подтверждены фотографиями закрытого состояния протеза, полученными в процессе оценки гидродинамики (рис. 9). Так, для наиболее сбалансированного сочетания «каркасный протез – стентовый протез» запирание створок происходило плотно, без формирования отверстий, однако при исследовании заведомо неправильного сочетания (большой каркасный протез – малый стентовый протез) в центре створок сохранялось центральное отверстие, которое и обусловило рост объема регургитации. Таким образом, при ошибке или недооценке размеров возможно значительное ухудшение гемодинамики комплекса «протез в протез», что необходимо учитывать при планировании и проведении вмешательства. Оптимальными сочетаниями в исследованном случае коммерческого каркасного биопротеза являются: «ЮниЛайн-21» – экспериментальный протез 19 мм, «ЮниЛайн-23» – экспериментальный протез 21 мм, «ЮниЛайн-25» – экспериментальный протез 23 мм, т. е. на один типоразмер меньше. Имплантация на два типоразмера меньше приведет к значительному ухудшению гемодинамических характеристик с высоким риском формирования транспротезной регургитации.

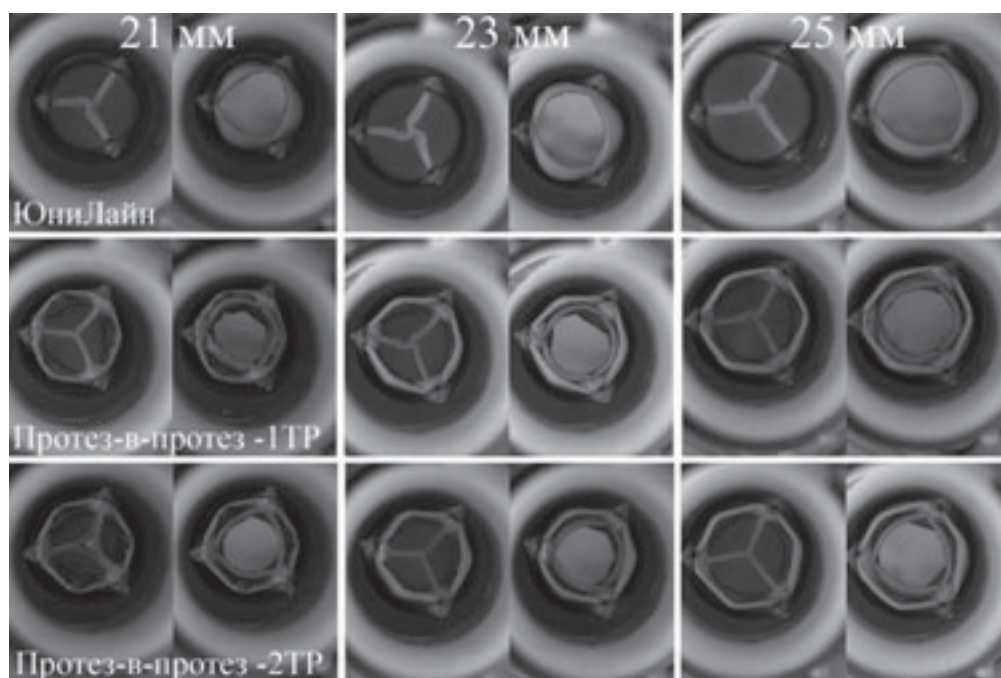


Рис. 9. Сравнение качественной работы створчатого аппарата до и после установки протеза для закрытого и открытого состояний, полученное методом высокоскоростной видеосъемки в процессе гидродинамического тестирования

Оценка способа баллонной бесшовной имплантации

В ходе воспроизведения всей последовательности процедуры повторного вмешательства, реализованной на модели трупного бычьего сердца, показано, что время первичной шовной имплантации биопротеза «ЮниЛайн» составило 9,5–11 минут, имплантации по типу «протез в протез» – 4 минуты, что можно считать значительным сокращением. Необходимо отметить, что в настоящем исследовании были искусственно созданы идеальные условия имплантации: подробная визуализация клапана аорты и особенно митрального клапана, которых в реальной практике достичь нельзя. Поэтому время имплантации каркасного протеза в операционной может быть значительно больше. В ходе исследования было отмечено полное раскрытие разрабатываемого протеза до расчетного значения с плотным прилеганием опорного каркаса к внутреннему просвету первично имплантированных биопротезов «ЮниЛайн» (рис. 10).

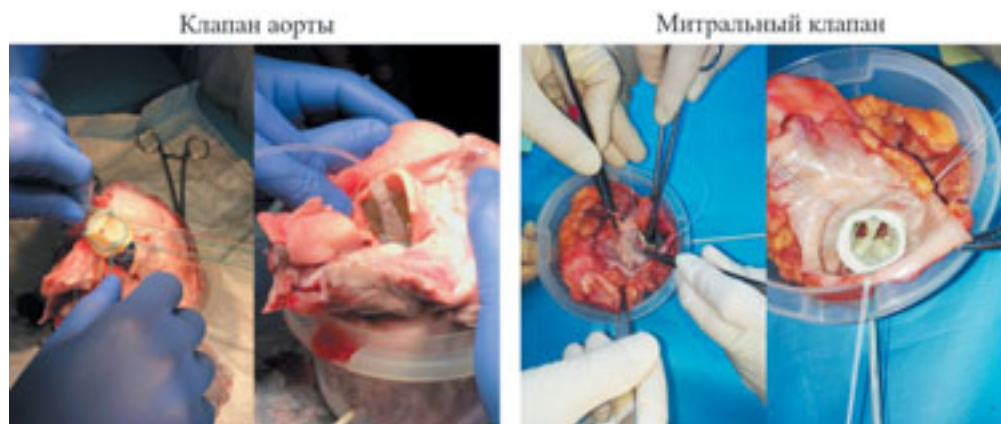


Рис. 10. Фотографии *in vitro* эксперимента на модели трупного сердца быка при имитации процедуры «протез в протез» для позиции клапана аорты и митральной позиции

Стойки сетчатого каркаса соответствовали по расположению стойкам «первичного» биопротеза (рис. 11, А, Б). Итоговая высота комплекса «протез в протез» составила 20 мм, незначительно, на 1,3 мм, выступая за нижний край «ЮниЛайн» (рис. 11, В). Такие габариты итогового комплекса «протез в протез» несут малый риск обструкции выводного отдела левого желудочка – основного осложнения применения «высоких» протезов для митральной позиции. При соблюдении рекомендованного сайзинга и достаточного давления в баллоне протез обеспечивает симметричное цилиндрическое раскрытие без формирования парапротезной фистулы по итогам гидравлической пробы.

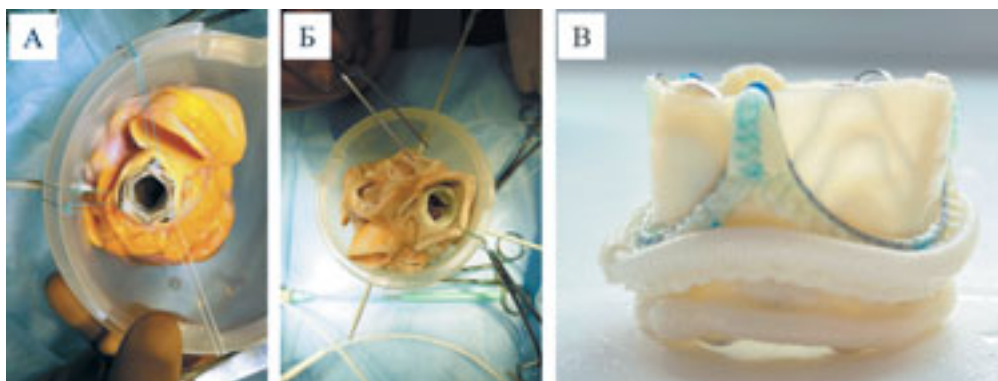


Рис. 11. Результат тестирования прототипов протеза в эксперименте *in vitro* воспроизведения процедуры «протез в протез»:
А – итоговый вид комплекса для позиции клапана аорты;
Б – то же для митральной позиции; В – укрупненный вид
комплекса на примере биопротеза клапана аорты, видно,
что стеновый протез незначительно выдается в приточной зоне
за счет собственной манжеты

Учитывая успешные результаты гидродинамического и физико-механического тестирования прототипов протеза в сборе, а также состоятельность малоинвазивного баллонного способа имплантации с использованием всех компонентов системы, следующим этапом исследования стала экспериментальная оценка устройства на модели животного.

Исследование на модели крупного животного *in vivo*

В ходе воспроизведения всей последовательности повторного протезирования клапанов сердца на модели овцы (рис. 12) согласно интраоперационному протоколу при первичном протезировании клапаном «ЮниЛайн» суммарное время наложения швов, прошивания манжеты и завязывания узлов составило 24–28 минут; общее время от момента левой атриотомии, протезирования митрального клапана и ушивания левого предсердия – 42–51 минуту. Для случая повторного бесшовного протезирования время непосредственной имплантации стенового протеза составило 4–6 минут, затраченное на введение системы в область имплантации и дилатацию баллона, а аналогичное общее время доступа к митральному клапану – 24–28 минут. Итоговое сокращение длительности доступа к митральному клапану с работающим искусственным кровообращением составило 18–23 минуты (–57%) за счет исключения необходимости шовной фиксации. Такое сокращение времени соответствует 1–2 эффективным пассажам кардиopleгии, вследствие чего стоит ожидать значительного снижения постоперационных рисков, связанных с негативным воздействием ис-

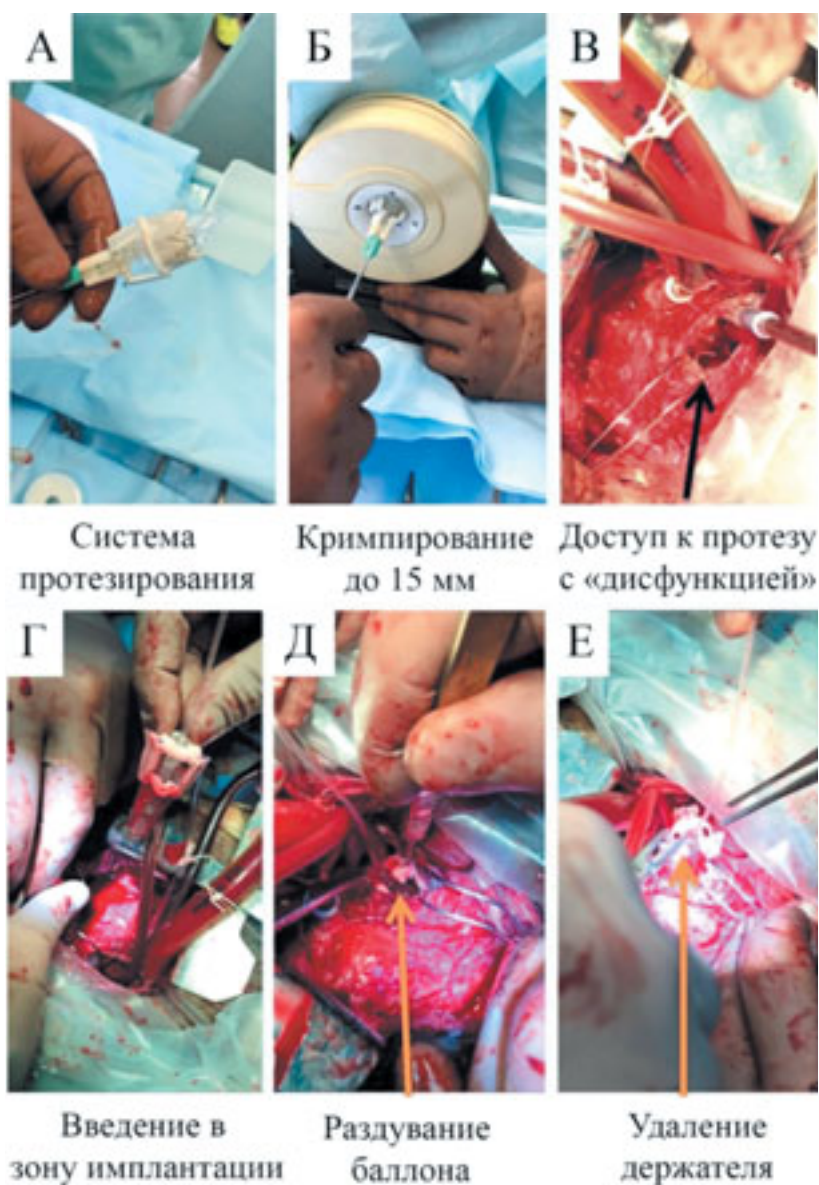


Рис. 12. Этапы вмешательства по типу «протез в протез»:
А – система репротезирования в сборе; **Б** – кримпирование системы до диаметра 15 мм; **В** – доступ к первичному биопротезу, моделирующему условия повторного протезирования («ЮниЛайн-26»); **Г** – введение системы репротезирования в область имплантации; **Д** – системы репротезирования после дилатации баллона, т. е. процесс непосредственно имплантации по типу «протез в протез»; **Е** – удаление отсеченного держателя системы репротезирования

кусственного кровообращения. Исследование методом трансторакальной эхокардиографии показало снижение гемодинамических показателей после повторного протезирования: незначительное изменение площади открытия протезов: 2,35–2,52 см² для «ЮниЛайн» и 2,06–2,60 см² – для экспериментальной системы «протез в протез». Максимальные и средние транспротезные градиенты составили 3,4–13,9 мм рт. ст. и 0,2–7,1 мм рт. ст. соответственно. Данное изменение гемодинамики вполне ожидаемо и обусловлено прежде всего снижением диаметра проходного отверстия, т. к. каркас, стенка и створчатый аппарат экспериментального стентового протеза имеют суммарную толщину 1,1–1,5 мм, что вызывает геометрическое сужение просвета. Такое искусственное стенозирование составляет до 15% от геометрической площади проходного отверстия протеза «ЮниЛайн-26» и «ЮниЛайн-28», что сходится с количественными гемодинамическими изменениями, описанными по эхокардиографии.

Таким образом, для представленной системы повторного вмешательства по типу «протез в протез» ценным является прежде всего сочетание удовлетворительной гемодинамики и значительного сокращения времени вмешательства. Использование стентовой технологии «протез в протез» демонстрирует снижение (до 21,6%) эффективной площади отверстия протеза и нарастание транспротезного градиента, остающиеся, тем не менее, в пределах допустимых значений. При этом технология обладает значительным преимуществом с позиции длительности операции – двукратного сокращения времени искусственного кровообращения, минимизация которого снижает риск послеоперационных осложнений. Выбор в пользу такого медицинского изделия, безусловно, должен быть оценен индивидуально для каждого пациента и для каждой команды кардиохирургов, исходя из объективных (текущее состояние пациента, риск хирургического вмешательства, коморбидность) и субъективных (опыт команды, ресурсы) факторов, однако использование предложенного подхода и системы репротезирования видится перспективным для решения задачи улучшения исходов повторных вмешательств на клапанах сердца.

Заключение

Предлагаемый в настоящем исследовании биологический стентоподобный протез призван снизить операционные риски повторного вмешательства на биопротезах клапанов сердца с развившейся дисфункцией. Основная концепция заключается в возможности исключить удаление несостоятельного биопротеза и необходимость наложения швов при фиксации нового протеза за счет имплантации по типу «протез в протез», обеспечивая при этом сокращение времени процедуры, и прежде всего длительности искусственного кровообращения. Подход, основанный на применении клапаносодержащего стента и баллонной технологии бесшов-

ной фиксации в просвете, позволяет эффективно репротезировать клапаны сердца – аортальный и митральный, без необходимости удаления несостоятельного первичного протеза. Основой для разработки конструкции такого протеза стала серия численных экспериментов *in silico*, последующие стендовые испытания *in vitro* и оценка его функции на модели крупного животного *in vivo*. Базовая задача такой последовательности – доказать безопасность и эффективность разрабатываемого медицинского изделия с позиции биомеханики метода бесшовной фиксации. На основании анализа литературы и форм схожих медицинских устройств было проведено проектирование стентоподобного опорного каркаса протеза для последующего *in silico* анализа. При численном моделировании процесса имплантации опорного каркаса выявлен рост механических напряжений в вершинах ячеек с образованием упругопластических шарниров, который, тем не менее, не превышал пороговых значений, достигая для наиболее успешного концепта 406,6–419,8 МПа. Проведенное исследование усталостной прочности – долговечности опорного каркаса, с использованием численных методов на основе диаграмм Гудмана, продемонстрировало незначительные величины переменного напряжения в цикле «нагрузка–разгрузка»: максимум показателя наблюдали при гипертензивном давлении для типоразмера 19 мм – 17,2 МПа. Коэффициент Гудмана, характеризующий «запас» усталостной прочности и его распределение на эпюрах, позволил охарактеризовать наличие и расположение наиболее критических точек опорных каркасов. Значения максимума данного показателя колебались от 0,46 до 0,72. В результате показано, что дизайн исследуемого опорного каркаса экспериментального протеза клапана сердца, предназначенного для репротезирования несостоятельного протеза по типу «протез в протез», обеспечивает ресурс усталости не менее 10^9 циклов.

В работе исследованы материалы и геометрические особенности функционирования створчатого аппарата как компонента протеза, обеспечивающего его основную задачу – формирование однонаправленного тока крови. На основании численного моделирования были выбраны два коммерческих материала-кандидата для последующей реализации в виде створчатого аппарата протеза: ксеноперикардальные лоскуты крупного рогатого скота «БиоЛаб-ПП» и «КемПериплас-Нео», продемонстрировавшие возможность цилиндрического сжатия, с возникновением умеренных напряжений областей перегиба до 8,40 и 5,35 МПа. Подбор оптимальной геометрии створок протеза показал, что наиболее подходящее соотношение «высота : диаметр» тубулярного створчатого аппарата бесшовно-имплантируемого биопротеза клапана, исходя из принципа наименьшего профиля, составляет 7 : 10. При этом комплексный анализ, прежде всего площади возникающей зоны коаптации, демонстрирует преимущество ксеноперикардального лоскута «КемПериплас-Нео» с малым модулем упругости в качестве итогового материала створок протеза.

Компьютерное моделирование, обосновавшее базовые характеристики конструкции протеза и его компонентов, позволило перейти на этап прототипирования – изготовление опорного каркаса протеза клапана и его створчатого аппарата. Оценка гидродинамических характеристик – основных показателей эффективности работы протеза – продемонстрировала незначительное изменение гидродинамических характеристик после процедуры «протез в протез» относительно показателей исходного «несостоятельного» протеза клапана. Однако такие результаты могут быть достигнуты только при правильном сайзинге – подборе малоинвазивного протеза относительно репротезируемого. При ошибке или недооценке размеров возможно значительное ухудшение гемодинамики. Так, показано, что средний транспротезный градиент может вырасти на 15,6–27,4% относительно исходного, с возникновением транспротезной регургитации – до 20,95% ударного объема, при выборе меньшего диаметра малоинвазивного протеза. Экспериментальная оценка процедуры имплантации на модели трупного сердца быка продемонстрировала состоятельность бесшовной баллонной технологии с использованием прототипов разрабатываемого протеза при имитации процедуры «протез в протез» для позиции клапана аорты и митральной позиции, а также значительное сокращение времени процедуры. В связи с этим проект перешел на стадию доклинического испытания *in vivo*. В исследовании на модели крупного животного ($n = 3$) показано, что технология бесшовного репротезирования может быть ценной альтернативой существующим REDO-операциям с позиции уменьшения времени доступа к митральному клапану, что сказывается на двукратном сокращении времени пережатия аорты и кардиоплегической остановки сердца. Кроме того, показано, что разработанная конструкция стентоподобного биопротеза безопасно работает на модели овцы в условиях имитации всех стадий повторного протезирования, с высокой гемодинамической эффективностью.

Выводы

1. Разработана геометрия опорного каркаса протеза клапана сердца, предназначенного для репротезирования по типу «протез в протез», состоящая из шести осесимметрично расположенных открытых и закрытых ячеек, реализующих таким образом функцию поддержания створчатого аппарата и бесшовной фиксации за счет создания пластической деформации в узлах конструкции в момент имплантации. При этом возникающие в материале силы, с одной стороны, необратимо деформируют опорный каркас, с другой – не достигают критических показателей предела прочности, что обеспечивает ресурс усталостной прочности не менее 10^9 циклов.
2. Геометрия створчатого аппарата на основе тубулярного дизайна с соотношением «высота : диаметр» в пропорции 7 : 10 обеспечивает

эффективную пропускную и запирательную функции. Кроме того, при таком подходе возможно достичь кримпирования протеза до малого диаметра на предимплантационном этапе без значительных эффектов разрушения материала створок.

3. Технология повторного протезирования по типу «протез в протез» на основании баллонного принципа обеспечивает надежную фиксацию стентоподобного протеза в просвете дисфункционального протеза клапана при создании давления не менее 4 атмосфер без риска дислокации в условиях бесшовного крепления.
4. Постимплантационное трансторакальное эхокардиографическое доплер-исследование протеза на модели крупного животного – овцы показало снижение геометрической площади отверстия с 2,35–2,52 см² для «ЮниЛайн» до 2,06–2,60 см² – для экспериментальной системы «протез в протез». Средний транспротезный градиент вырос на 2,5–7,7 мм рт. ст. относительно первичного протезирования с ростом средней линейной скорости кровотока на 0,46–1,18 м/с. Нарушений пропускной и запирательной функции в течение не менее шести месяцев и признаков дислокации не выявлено.

Практические рекомендации

1. Численное моделирование и современные *in silico* подходы к проектированию и исследованию изделия, а именно метод конечных элементов и метод погруженной границы, рекомендованы для разработки и первичной оценки конструкции протеза клапана сердца, особенно в рамках сочетания моделирования «жидкость – твердое тело».
2. Для минимизации рисков во время процедуры имплантации по типу «протез в протез» и ухудшения гемо- и гидродинамических результатов функционирования его створчатого аппарата необходимо обеспечить тщательный подбор соответствующего типоразмера – сайзинг протеза. Показано, что в текущем случае каркасного протеза «ЮниЛайн» такой оптимальный сайзинг составляет на 1 типоразмер меньше относительно исходного протеза с дисфункцией.
3. Использование баллонного способа имплантации для устройства по типу «протез в протез» обеспечивает малую высоту профиля и надежную фиксацию в просвете дисфункционального протеза, чего нельзя достичь самораскрывающимися технологиями, для которых необходима значительная протяженность опорного каркаса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Усталостная прочность нового биопротеза клапана сердца / **К.Ю. Клышников**, Е.А. Овчаренко, Д.В. Нуштаев, Л.С. Барбараш // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – № 2. – С. 46–52.
2. Функциональные характеристики биопротезов «ЮниЛайн» / **К.Ю. Клышников**, Е.А. Овчаренко, Н.А. Щеглова, Л.С. Барбараш // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2017. – Т. 6. – № 3. – С. 6–12.
3. Экспериментальное обоснование конструкции протеза клапана сердца для имплантации по типу «протез в протез» / **К.Ю. Клышников**, Е.А. Овчаренко, А.Н. Стасев, Т.В. Глушкова, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № 2. – С. 69–77.
4. Компьютерное моделирование течения жидкости через биопротез клапана сердца / **К.Ю. Клышников**, Е.А. Овчаренко, А.В. Батрагин, Д.А. Долгов, Ю.Н. Захаров, К.С. Иванов, Ю.А. Кудрявцева, Ю.И. Шокин, Л.С. Барбараш // Математическая биология и биоинформатика. – 2018. – Т. 13. – № 2. – С. 337–347.
5. *In vitro* исследование биологического протеза клапана для бесшовной фиксации / **К.Ю. Клышников**, Е.А. Овчаренко, А.Н. Стасев, Н.А. Щеглова, Ю.Н. Одаренко, И.К. Халивопуло, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 19. – № 4. – С. 334–347.
6. Моделирование процедуры транскатетерной имплантации клапана аорты / **К.Ю. Клышников**, В.И. Ганюков, А.В. Батрагин, Д.В. Нуштаев, Е.А. Овчаренко // Математическая биология и биоинформатика. – 2019. – Т. 14. – № 1. – С. 204–219
7. Первый опыт репротезирования митрального клапана с использованием системы бесшовной имплантации по методу «протез в протез»: двухэтапная имплантация на крупном животном / **К.Ю. Клышников**, Б.Л. Хаес, И.К. Халивопуло, А.Н. Стасев, С.С. Крутицкий, Д.В. Борисенко, М.А. Ситникова, А.В. Иванова, Ю.А. Кудрявцева, С.Г. Кокорин, А.В. Евтушенко, Е.А. Овчаренко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – № 12. – С. 783–787.
8. Перспективы применения триблок-сополимера изобутилена и стирола (SIBS) в качестве материала створчатого аппарата клапана сердца лепесткового типа: оценка физико-химических и механических свойств / М.А. Резцова, Е.А. Овчаренко, П.А. Никишев, С.В. Костюк, Т.В. Глушкова, Д.В. Требушат, В.С. Черноносова, Г.Ю. Шевелев, **К.Ю. Клышников**, Ю.А. Кудрявцева // Журнал прикладной химии. – 2019. – Т. 92. – № 1. – С. 13–23.
9. Численное моделирование гемодинамики при повторном протезировании клапана сердца / Е.А. Овчаренко, П.С. Онищенко, **К.Ю. Клышников**, В.И. Ганюков, А.А. Шилов, И.Е. Верещагин, А.Н. Коков, Р.С. Тарасов, В.Г. Борисов, Ю.Н. Захаров, Л.С. Барбараш // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2019. – Т. 23. – № 3. – С. 30–38.
10. Polyisobutylene-based thermoplastic elastomers for manufacturing polymeric heart valve leaflets: *In vitro* and *in vivo* results / E. Ovcharenko, M. Rezvova, P. Nikishau, S. Kostjuk, T. Glushkova, L. Antonova, D. Trebushat, T. Akentieva, D. Shishkova,

- Е. Krivikina, **K. Klyshnikov**, Y. Kudryavtseva, L. Barbarash // Applied Sciences (Switzerland). – 2019. – Т. 9. – № 22. – С. 1–18.
11. Гидродинамическая эффективность бесшовного протеза клапана сердца / **К.Ю. Клышников**, Е.А. Овчаренко, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 117–124.
 12. Перспективы использования триблок-сополимеров SIBS в кардиохирургии: *in vitro* и *in vivo* исследование в сравнении с ePTFE / М.А. Резцова, Е.А. Овчаренко, П.А. Никишев, С.В. Костюк, Л.В. Антонова, Т.Н. Акентьева, Т.В. Глушкова, Е.Г. Великанова, Д.К. Шишкова, Е.О. Кривкина, **К.Ю. Клышников**, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 21. – № 4. – С. 67–80.
 13. A New Nanocomposite Copolymer Based On Functionalised Graphene Oxide for Development of Heart Valves / E.A. Ovcharenko, A. Seifalian, M.A. Rezvova, **K.Y. Klyshnikov**, T.V.V. Glushkova, T.N. Akenteva, L.V.V. Antonova, E.A. Velikanova, V.S. Chernonosova, G.Y. Shevelev, D.K. Shishkova, E.O. Krivkina, Y.A. Kudryavceva, A.M. Seifalian, L.S. Barbarash // Scientific Reports. – 2020. – Т. 10. – № 1. – С. 1–15.
 14. Biocompatible Nanocomposites Based on Poly(styrene-block-isobutylene-block-styrene) and Carbon Nanotubes for Biomedical Application / M.A. Rezvova, A.E. Yuzhalin, T.V. Glushkova, M.I. Makarevich, P.A. Nikishau, S.V. Kostjuk, **K.Y. Klyshnikov**, V.G. Matveeva, M.Y. Khanova, E.A. Ovcharenko // Polymers. – 2020. – Т. 12. – № 9. – С. 2158.

Патенты

1. Пат. RU 196245 U1 Баллонный катетер имплантационный / **Клышников К.Ю.**, Овчаренко Е.А., Барбараш Л.С.; заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) (RU). – № 2019127149, дата регистрации: 21.02.2020; опубл. 21.02.2020 Бюл. № 6.
2. Пат. RU 169559 U1 Устройство для имплантации биологических расширяемых протезов клапанов сердца / Барбараш Л.С., **Клышников К.Ю.**, Овчаренко Е.А., Стасев А.Н.; заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) (RU). – № 2016118437 дата регистрации: 11.05.2016; опубл. 22.03.2017 Бюл. № 9.
3. Пат. RU 156774 U1 Биологический протез для репротезирования клапанов сердца / Барбараш Л.С., **Клышников К.Ю.**, Овчаренко Е.А., Стасев А.Н., Кокорин С.Г.; заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) (RU). – 2015101534/14, дата регистрации: 19.01.2015; опубл. 20.11.2015 Бюл. № 32.

Список сокращений

CE-Mark	–	Conformité Européenne Mark
FDA	–	Food and Drug Administration
ISO	–	International Organization for Standardization
TAVR	–	транскатетерное протезирование клапана аорты
ГА	–	глутаровый альдегид
ГОСТ	–	государственный стандарт
ДЭЭ	–	диглицидиловый эфир этиленгликоля
КРС	–	крупный рогатый скот
МПа	–	мегапаскаль
НЦССХ	–	Научный центр сердечно-сосудистой хирургии
ТР	–	типоразмер

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ: КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *TGFB1*

Мещеряков С.В., Шевченко О.П.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время трансплантация печени признана единственным эффективным методом лечения детей с терминальными заболеваниями печени [Kamath В.М., Olthoff К.М., 2010]. Наиболее частыми показаниями к трансплантации печени детям раннего возраста являются наследственные и врожденные заболевания желчевыводящих путей [Thuluvath P.J. et al., 2010].

В ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, являющемся лидером по количеству трансплантаций различных солидных органов в Российской Федерации, одним из приоритетных направлений является трансплантация печени детям. Данная программа берет начало с 2008 года, за это время выполнено большое количество трансплантаций печени, средняя годовичная выживаемость которых составляет 86%, что полностью соответствует общемировой статистике [Готье С.В. и соавт., 2014]. Такие показатели достигнуты благодаря усовершенствованию хирургической техники (например, лапароскопические заборы левого латерального сектора печени у родственных доноров), разработке и внедрению новых протоколов иммуносупрессивной терапии, профилактике вирусных заболеваний, стандартизации и разработке единых протоколов ведения пациентов в послеоперационном периоде [Готье С.В. и соавт., 2018; Цирульникова О.М. и соавт., 2016].

Период после трансплантации может сопровождаться развитием серьезных осложнений, таких как иммунологические реакции, инфекционные осложнения или дисфункция трансплантата. Перспективным направлением

ем является развитие более точных методов прогнозирования и диагностики осложнений на основе новых молекулярно-генетических маркеров нежелательных событий.

В развитии острого и хронического отторжения после трансплантации солидных органов роль главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) достаточно изучена, но помимо ГКГ существует огромный спектр цитокинов, которые являются регуляторами иммунного ответа в посттрансплантационном периоде [Akdis M. et al., 2016]. Показано, что существенную роль в развитии отторжения трансплантата и инфекционных заболеваний после трансплантации печени может играть трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), важный компонент иммунной системы, обладающий иммуносупрессивным и профиброгенным действием [Hughes A. et al., 2019; Park S. et al., 2019; Blobe G.C., Schieman W.P., Lodish H.F., 2000].

Результаты исследований ряда авторов, в том числе и работ, проведенных в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, показали, что уровень цитокина коррелирует с функцией трансплантата печени и может иметь прогностическое и диагностическое значение [Briem-Richter A. et al., 2013; Dudek K. et al., 2009; Zhang Y. et al., 2009]. Содержание TGF- $\beta 1$ в крови и тканях реципиента зависит от многих факторов, одним из которых, возможно, является генетическая детерминированность продукции этого цитокина.

Для гена *TGFBI* характерен значительный полиморфизм, который может служить причиной индивидуального уровня экспрессии белка и быть связан с различными заболеваниями [Kurabekova R.M. et al., 2020; Bennett J. et al., 2016; Dhaouadi T. et al., 2013; Hussein M.H. et al., 2011]. Наибольший интерес исследователей в области трансплантации солидных органов вызывают 3 однонуклеотидных полиморфизма (ОНП) в гене *TGFBI*: rs1800469, rs1800470 и rs1800471. Предположительно указанные полиморфизмы могут приводить к различному уровню продукции TGF- $\beta 1$ и ассоциироваться с развитием отторжения, фиброза и хронической дисфункции трансплантата [Kim Y.-H. et al., 2013; Javor J. et al., 2010].

Исследование роли генетического полиморфизма, определяющего активность про- и противовоспалительных цитокинов, в том числе и TGF- $\beta 1$, в патогенезе заболеваний реципиентов солидных органов является важной задачей, решение которой позволит, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологии и тяжесть ее течения, а с другой – индивидуально подбирать специфическую терапию для каждого пациента.

Цель исследования

Определить связь полиморфизма гена трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (*TGFBI*) с течением посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени и оценить его клиническое значение.

Задачи исследования

1. Проанализировать спектр нежелательных событий после трансплантации печени у детей раннего возраста.
2. Оценить распределение полиморфизмов rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFB1* у детей – реципиентов печени и их связь с концентрацией цитокина TGF- β 1 в плазме крови.
3. Охарактеризовать связь нежелательных иммунологических событий посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени с носительством различных полиморфизмов *TGFB1*.
4. Охарактеризовать связь полиморфизмов rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFB1* с развитием инфекционных осложнений у детей после трансплантации печени.

Научная новизна

Впервые проведена оценка частоты встречаемости полиморфных вариантов гена *TGFB1* – rs1800469, rs1800470 и rs1800471 у детей с острой и хронической печеночной недостаточностью. В результате исследования выявлены отличия в распределении вариантов rs1800470 *TGFB1* у детей с печеночной недостаточностью от такового у здоровых лиц.

Новыми являются данные о различиях в частоте встречаемости однонуклеотидного полиморфизма rs1800471 *TGFB1* у детей с холестатическими и нехолестатическими заболеваниями.

Впервые показана связь полиморфизма rs1800469 *TGFB1* с развитием инфекционных осложнений в раннем посттрансплантационном периоде у детей – реципиентов печени. Выявлена связь между полиморфизмом rs1800469 *TGFB1* и уровнем TGF- β 1 в плазме крови до трансплантации.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования встречаемости генетического полиморфизма, определяющего активность TGF- β 1, у детей с острой и хронической печеночной недостаточностью позволят оценить возможную роль цитокина в патогенезе заболевания печени.

Оценка связи полиморфизмов гена *TGFB1* с развитием посттрансплантационных осложнений позволит, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологии и тяжесть ее течения, а с другой – персонализировать подбор специфической терапии для конкретного пациента.

Методология и методы исследования

В исследовании проведен анализ клинических данных, инструментальных и лабораторных методов исследования у реципиентов детского возраста, которым была выполнена трансплантация печени, также проана-

лизированы посттрансплантационные осложнения в раннем и отдаленном периоде и взаимосвязь с полиморфизмами гена. Полиморфизмы гена *TGFB1* – rs1800469, rs1800470 и rs1800471 определяли методом полимеразной цепной реакции, уровень цитокина TGF- β 1 – методом иммуноферментного анализа. Для обобщения результатов настоящего исследования применялись методы параметрической и непараметрической статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В раннем посттрансплантационном периоде частыми осложнениями являются инфекционные, в отдаленном периоде развивается дисфункция трансплантата печени.
2. У детей с острой и хронической печеночной недостаточностью частота встречаемости полиморфных вариантов *TGFB1* не соответствует равновесному распределению (закону Харди-Вайнберга) и отличается от встречаемости вариантов гена у здоровых.
3. Концентрация TGF- β 1 в плазме крови детей-реципиентов до трансплантации печени связана с полиморфизмом *TGFB1*.
4. Полиморфизм *TGFB1* у детей – реципиентов печени ассоциирован с развитием инфекций, одним из наиболее частых осложнений раннего посттрансплантационного периода.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (118 пациентов, обследованных до и после трансплантации печени) с использованием современных и стандартизированных методов анализа.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются в хирургическом отделении № 2, педиатрическом отделении Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в работе отделения пересадки печени Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», в учебном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Публикации по теме диссертации

По материалам исследования автором опубликовано 5 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 5 статей в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В настоящее исследование включены 118 человек, страдающих терминальными заболеваниями печени, в исходе врожденной патологии. Этиологическое разнообразие заболеваний представлено атрезией желчевыводящих путей (АЖВП, $n = 62$), гипоплазией желчевыводящих путей (ГЖВП, $n = 10$), болезнью Байлера ($n = 7$), синдромом Алажиля ($n = 10$), болезнью и синдромом Кароли ($n = 20$) и другими ($n = 9$), в эту группу вошли такие заболевания, как криптогенный цирроз печени, фульминантный гепатит, синдром Криглера–Наяра и Бадда–Киари, гепатобластома и дефицит альфа-1 антитрипсина.

Превалирующим показанием для трансплантации печени служили аномалии развития желчевыводящих путей (холестатические заболевания – АЖВП – 53%, ГЖВП – 8%, синдром Алажиля – 8%), в меньшей степени метаболические заболевания и другие. Средний вес пациентов составил $9,53 \pm 6,6$ кг, медиана 7.

Тяжесть состояния исследуемых оценивалась по шкале PELD (англ. Pediatric end-stage liver disease) [Freeman R.B. et al., 2004] – это система оценки тяжести заболевания для детей в возрасте до 12 лет. Она рассчитывается по показателям в сыворотке крови альбумина, билирубина пациента, международного нормализованного соотношения (МНО) вместе с возрастом пациента и степенью физического развития. Эта оценка используется UNOS (англ., United network for organ sharing, Объединенная сеть по распределению донорских органов) для определения приоритетов при распределении трансплантата печени. Среднее значение составило PELD $19,0 \pm 8,36$, медиана 18,0.

Группой сравнения служили здоровые взрослые – доноры крови ($n = 64$), из которых мужчины составили 42% ($n = 27$), женщины – 58% ($n = 37$). Средний возраст доноров печени составлял 37 ± 19 лет, средняя масса тела – 67 ± 13 кг и рост – 165 ± 10 см.

При подготовке к трансплантации печени проводилось всестороннее исследование детей-реципиентов, а в случае родственной трансплантации выполнялся подбор оптимального потенциального донора, что было осно-

вополагающим для положительного исхода оперативного вмешательства. Потенциальным реципиентам печени выполнялось клинико-инструментальное обследование по протоколу, принятому в НМИЦ ТИО.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

Параметры	Число пациентов, (n)	(%)
Пол		
– муж	64	54,2
– жен	54	45,8
Возраст, мес.	От 3 до 144 (19,0 ± 28,4) медиана 8	
Вес, кг	9,53 ± 6,6 медиана 7	
Диагноз		
АЖВП	62	52,5
ГЖВП	10	8,5
Болезнь Байлера	7	5,9
Синдром Алажиля	10	8,5
Болезнь и синдром Кароли	20	16,9
Другие (АИГ, криптогенный цирроз печени, фульминантный гепатит, синдром Криглера–Наяра, синдром Бадда–Киари, гепатобластома, дефицит альфа-1 антитрипсина)	9	7,6
PELD	19 ± 8,36 медиана 18,0	
Выполненные трансплантации по системе-ABO		
совместимые	22	18,6
несовместимые	23	19,5
однотипные	73	61,9
Вид трансплантата		
– LLS	109	92,4
– LL	5	4,2
– RL	2	1,7
– Split-LLS	2	1,7

После успешно выполненной трансплантации в течение первых 14 дней проводилась непрерывная оценка жизненно важных функций организма, контроль КИЦС крови каждые 6 часов, лабораторный контроль общего анализа крови, биохимических показателей крови (в обязательном порядке определялись маркеры воспалительных реакций – С-реактивный белок, прокальцитонин, пресепсин), значения свертывающей системы крови, если была выполнена АВ0-несовместимая трансплантация печени, то титр группоспецифических антител выполнялся ежедневно в первые 7 дней после трансплантации, затем, если послеоперационный период

имел плановое течение, 1 раз в 2 дня. Как только к терапии добавлялся такролимус, определение его концентрации в цельной крови проводилось 1 раз в 2 дня.

Дифференциальный диагноз острого отторжения проводился в первую очередь с билиарными осложнениями, инфекционными процессами. Благодаря рутинному использованию методов исследования (МРТ и УЗ) исключались билиарные осложнения (стриктура или несостоятельность билиодигестивного анастомоза, билиарный затек, острый холангит и др.). По лабораторным данным исключался инфекционный процесс различной этиологии. Для подтверждения острого отторжения трансплантата выполнялась пункционная биопсия, но ввиду того что данный метод в абсолютном большинстве случаев превышал ценность морфологического исследования, методика не была рутинной.

Концентрацию $TGF-\beta 1$ в плазме крови определяли с помощью количественного твердофазного иммуноферментного анализа с использованием специфических наборов реагентов («Bender MedSystems», Австрия) в соответствии с инструкцией производителя.

Выделение геномной ДНК проводили из периферической крови согласно протоколу с помощью коммерческого набора QIAamp DNA Blood Mini Kit на автоматическом анализаторе QIAcube™ (Qiagen, Германия). Полиморфные варианты rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFBI* тестировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью зондов TaqMan (Applied Biosystems, США) на амплификаторе CFX96™ («Bio-Rad», США).

Обработку полученных данных выполняли с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ для научно-технических расчетов IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., Ш). Проверка нормальности распределения основывалась на критерии Шапиро–Уилка. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$), верхние и нижние границы 95%-го доверительного интервала для параметрических и как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. Статистическую обработку полученных данных проводили методами непараметрической статистики: при сравнении зависимых выборок рассчитывали парный критерий Вилкоксона, для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна–Уитни или Краскела–Уоллиса. Для оценки связи количественных и качественных порядковых признаков рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности течения посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени

В посттрансплантационном периоде встречались следующие осложнения: иммунологические события – 20 (16,9%), инфекционные осложнения – 21 (17,8%), другие (неинфекционные) осложнения (хирургические и т. д.) – 32 (27,1%), в отдаленном периоде дисфункция трансплантата печени – 7 (5,9%) (рис. 1).

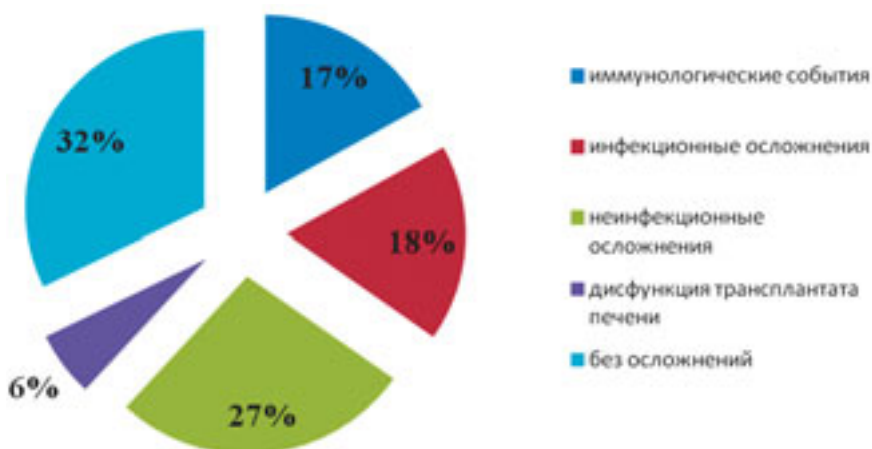


Рис. 1. Доля нежелательных событий после трансплантации печени

Большинство клинически значимых инфекций происходит в первые 180 дней после трансплантации печени.

Сроки возникновения инфекций можно разделить на 3 интервала: ранний (0–30 дней после трансплантации), промежуточный (30–180 дней), поздний (более 180 дней). В исследуемой группе пациентов в 21 (17,7%) случае были выявлены инфекционные осложнения.

В данной группе представлены пациенты с высоким показателем PELD (20 ± 6) перед оперативным вмешательством – трансплантацией печени. Масса тела была $9,3 \pm 5,4$ кг. В группе инфекционных осложнений 8 реципиентам была выполнена АВ0-несовместимая трансплантация печени, 2 из которых понадобилась дотрансплантационная подготовка (введение моноклональных антител, проведение сеансов плазмафереза).

В большинстве случаев данные осложнения получили свой дебют в ранний период – в течение 30 суток после трансплантации. Виды инфекционных осложнений представлены на рис. 2.

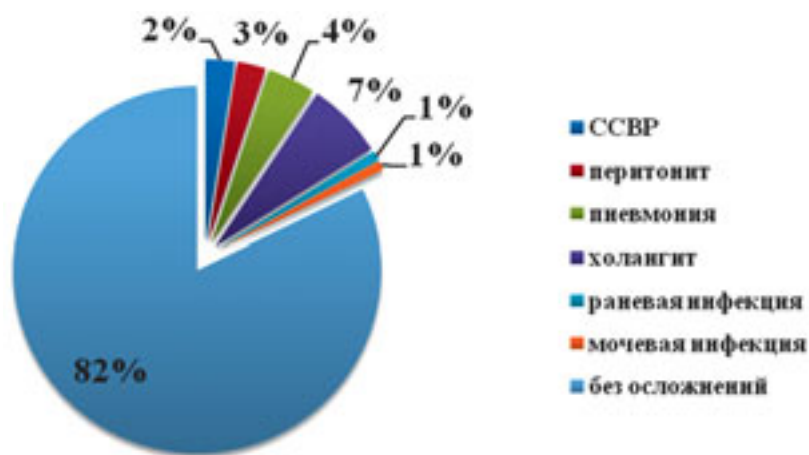


Рис. 2. Распределение и виды инфекционных осложнений

Осложнения, связанные с оперативным вмешательством (трансплантацией печени), можно разделить на несколько групп: кровотечения, тромбозы, желчные затеки/свищи, перфорации кишки (рис. 3). Также в эту группу включены осложнения, связанные с тяжестью основного заболевания, например ателектазы легких, которые сопряжены с недостаточным развитием легочной ткани ввиду малого возраста пациентов. В этой группе осложнений преобладают билиарные осложнения – желчные затеки/свищи ($n = 13$, 11%). По данным мировой литературы, билиарные осложнения являются ахиллесовой пятой трансплантации печени в детском возрасте. По мировой статистике, процент осложнений, связанных с желчеотведением, составляет от 10 до 40%.

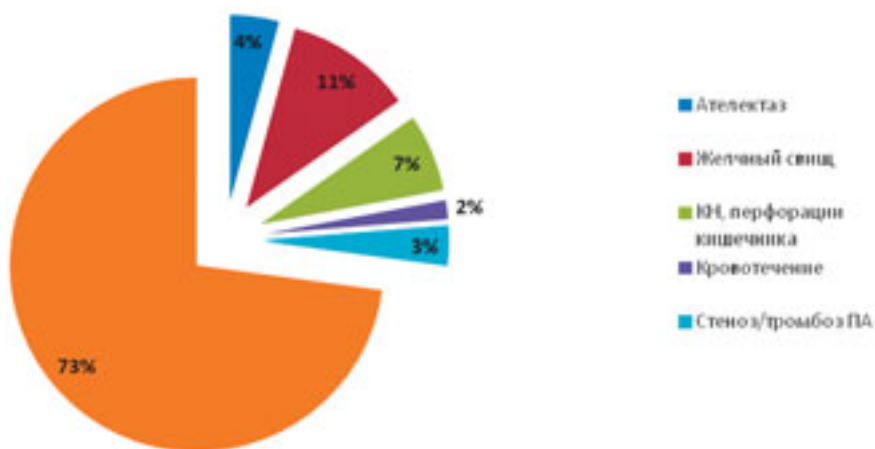


Рис. 3. Распределение неинфекционных осложнений

Частота распределения полиморфизмов *TGFB1* у детей – реципиентов печени

Трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) представляет собой плейотропный цитокин с профиброгенной и иммунодепрессивной активностью, и его уровень может влиять на функцию трансплантата печени. Содержание TGF- $\beta 1$ в крови коррелирует с тяжестью фиброза печени, частотой развития дисфункции и потребностью в дозе такролимуса у детей – реципиентов печени. Уровень TGF- $\beta 1$ зависит от множества факторов, одним из которых может быть его генетическая детерминированность.

Анализ распределения исследованных полиморфизмов на соответствие закону Харди-Вайнберга показал, что у реципиентов печени наблюдалось отклонение от равновесия Харди-Вайнберга для ОНП rs1800469 и rs1800470 *TGFB1*, что может быть связано с основным заболеванием. Распределение ОНП rs1800471 *TGFB1* у реципиентов печени соответствовало уравнению Харди-Вайнберга.

У здоровых индивидов распределение всех исследованных ОНП соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

В табл. 2 приведены статистические показатели на соответствие закону Харди-Вайнберга – критерий χ^2 и значение вероятной ошибки, рассчитанные для исследованных полиморфизмов у реципиентов печени и здоровых лиц.

Таблица 2

Анализ данных на соответствие закону Харди-Вайнберга

ОНП Группы	rs1800469	rs1800470	rs1800471
Здоровые лица	$\chi^2 = 1,83, p = 0,175$	$\chi^2 = 0,39, p = 0,431$	$\chi^2 = 0,06, p = 0,796$
Реципиенты печени	$\chi^2 = 6,11, p = 0,013$	$\chi^2 = 17,3, p = 0,000$	$\chi^2 = 0,47, p = 0,491$

Примечание. * $p < 0,05$ – не соответствует закону Харди-Вайнберга; ОНП – однонуклеотидный полиморфизм.

Сравнительный анализ встречаемости генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов у детей – реципиентов печени и здоровых людей представлен в табл. 3.

Для rs1800470 *TGFB1* частота встречаемости генотипов достоверно различалась у реципиентов и здоровых индивидов – частота генотипа GG у реципиентов была достоверно выше, чем в группе здоровых (отношение шансов ОШ = 10,121, ДИ [0,572–179,039], $\chi^2 = 4,59, p = 0,032$).

Частота встречаемости аллеля G rs1800470 *TGFB1* у реципиентов печени также была достоверно выше, чем у здоровых: ОШ = 2,153, ДИ [0,994–4,667], $\chi^2 = 3,92, p = 0,0476$ (рис. 4).

Таблица 3

**Сравнение доли встречаемости генотипов
и аллелей полиморфизмов TGFB1
среди детей – реципиентов печени и здоровых лиц**

Носительство генотипов/аллелей	Реципиенты печени, %	Здоровые лица, %	p
<i>rs1800469</i>			
Генотип AA	21	15	0,397
Генотип AG	35	34	0,887
Генотип GG	44	51	0,422
Аллель A	39	28	0,422
Аллель G	61	72	0,397
<i>rs1800470</i>			
Генотип AA	77	85	0,240
Генотип AG	15	15	0,957
Генотип GG	7	0	0,034*
Аллель A	85	92	0,034*
Аллель G	15	8	0,240
<i>rs1800471</i>			
Генотип GG	0	0	–
Генотип GC	12	6	0,220
Генотип CC	88	94	0,220
Аллель G	6	3	0,220
Аллель C	94	97	–

Примечание. * – $p < 0,05$; ОНП – однонуклеотидный полиморфизм.

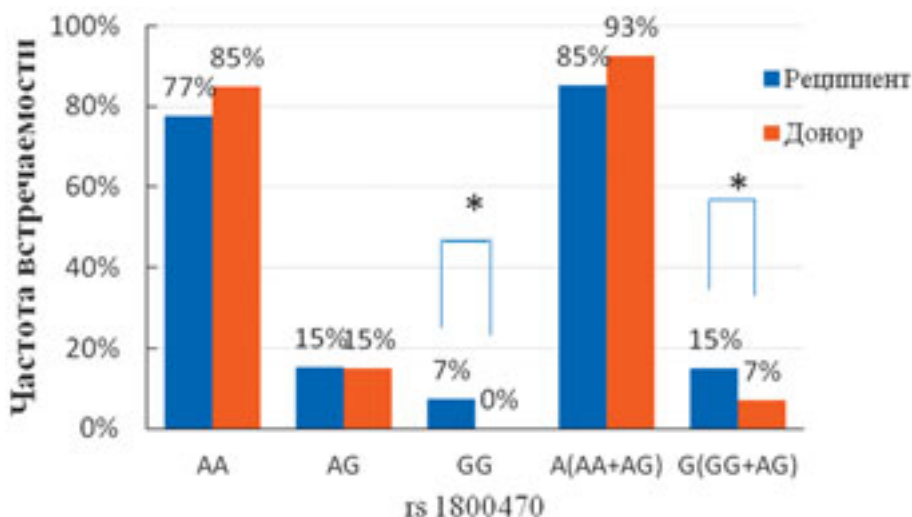


Рис. 4. Частотное распределение аллелей и генотипов rs1800470 TGFB1 у реципиентов печени и здоровых лиц, * – $p < 0,05$

У детей – реципиентов печени частота встречаемости наиболее значимых однонуклеотидных полиморфизмов гена *TGFB1*: rs1800469, rs1800470 не соответствует равновесному распределению в соответствии с законом Харди-Вайнберга, тогда rs1800471 распределен равномерно.

Был проведен сравнительный анализ частоты встречаемости разных генотипов и аллелей исследованных ОНП у пациентов с холестатическими (группа «АЖВП») и нехолестатическими (группа «Другие») заболеваниями. В случае ОНП rs1800471 *TGFB1* было выявлено, что между группами «АЖВП» и «Другие» наблюдались достоверные различия в частоте встречаемости генотипа и аллелей (рис. 5).

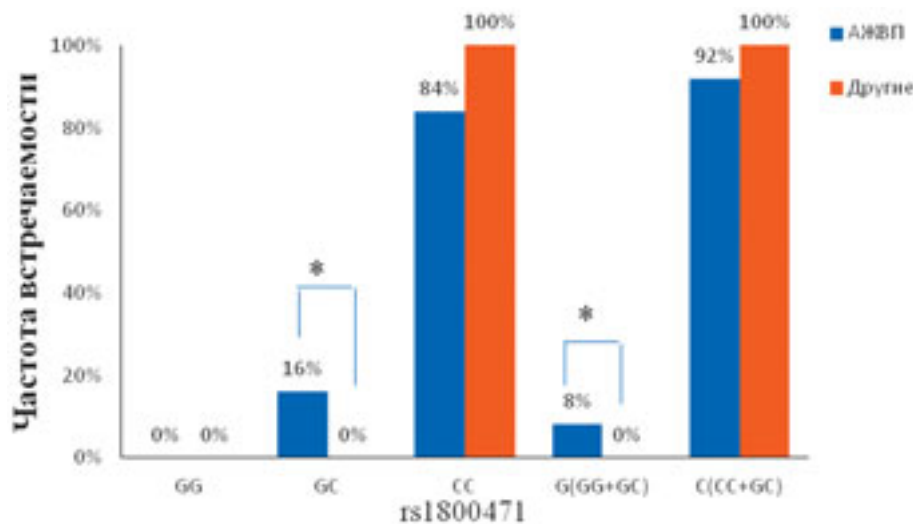


Рис. 5. Частотное распределение аллелей и генотипов полиморфизма rs1800471 *TGFB1* у реципиентов печени с различной этиологией, * – $p < 0,05$

В группе «Другие» генотип GC отсутствовал, тогда как в группе «АЖВП» гетерозигот было 16%, $p = 0,020$. Частота носительства аллеля G в этих группах также достоверно различалась: 8% при АЖВП против нулевой встречаемости при других диагнозах, $p = 0,020$.

Встречаемость варианта rs1800470 *TGFB1* различается у детей с заболеваниями печени и здоровых лиц. Показано также отличие в распределении rs1800471 *TGFB1* у пациентов с различной этиологией заболевания печени. Возможно, что выявленные особенности распределения исследованных ОНП у детей – реципиентов печени могут быть связаны с основным заболеванием, часть из которых генетически обусловлена.

Сравнение концентрации TGF- β 1 в плазме крови до, через год и месяц после трансплантации у детей – реципиентов печени с различным геноти-

пом исследованных полиморфизмов *TGFB1* показало, что у реципиентов печени с генотипами AG и GG rs1800469 уровень TGF- β 1 в плазме крови до трансплантации достоверно различался, $p = 0,038$ (рис. 6).

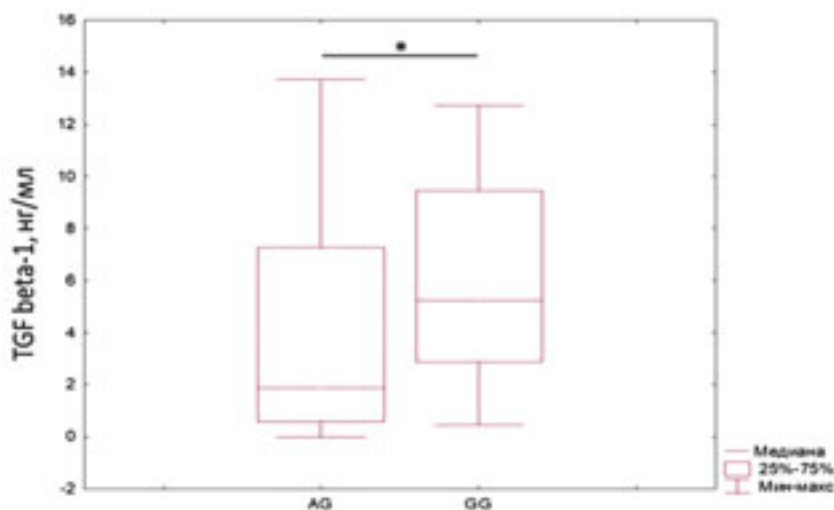


Рис. 6. Уровень TGF- β 1 в плазме крови детей до трансплантации печени с различным генотипом rs1800469, * - $p < 0,05$

Сравнительный анализ содержания TGF- β 1 в плазме крови у реципиентов с полиморфизмами rs1800470 и rs1800471 до и после трансплантации не выявил достоверных различий.

Анализ связи полиморфизмов гена *TGFB1* с течением посттрансплантационного периода

В работе проведен анализ связи частоты встречаемости полиморфизмов rs1800469, rs1800470 и rs1800471 *TGFB1* с частотой развития таких осложнений, как отторжение, вирусные и бактериальные инфекции, билиарные осложнения, тромбозы и кровотечения, а также дисфункция трансплантата.

Не выявлено различий в частоте встречаемости генотипов и аллелей трех исследуемых полиморфизмов *TGFB1* у реципиентов печени детского возраста с иммунологическими событиями и без таковых.

Анализ не выявил достоверных различий в носительстве генотипов и аллелей 3 исследованных полиморфизмов при наличии или отсутствии билиарных осложнений.

Также не выявлено различий в носительстве 3 исследованных полиморфизмов при наличии или отсутствии нарушений свертываемости крови (тромбозы и кровотечения).

Выявлена связь встречаемости варианта аллеля A rs1800469 с развитием инфекционных осложнений. Анализ связи встречаемости вариантов rs1800469 *TGFB1* с частотой развития инфекционных осложнений с помощью двухпольной таблицы сопряженности показал, что среди реципиентов с таким осложнением достоверно чаще встречалась аллель A (AA + AG), чем аллель G (GG) ($p = 0,020$) (табл. 4)

Таблица 4

Таблица сопряженности между вариантами A и G rs1800469 *TGFB1* и наличием инфекционного осложнения у детей-реципиентов после трансплантации печени

Инфекционное осложнение (да / нет)	rs1800469 A	rs1800469 G	Всего
Да, %	79	21	100
Нет, %	49	51	100
Chi-square (df = 1)	5,36 $p = 0,0206$		

Расчет отношения шансов показал, что носительство аллеля A rs1800469 *TGFB1* достоверно повышает риск развития инфекционных осложнений в 3,8 раза по сравнению с аллелем G (ОШ = 3,854, ДИ [1,167–12,727], $\chi^2 = 5,36$, $p = 0,0206$).

Таким образом, результаты настоящей работы показали, что в раннем посттрансплантационном периоде наиболее частым осложнением являются инфекции (17,79%); в отдаленном периоде – дисфункция трансплантата (5,93%).

Анализ исследованных полиморфизмов гена *TGFB1* (rs1800469, rs1800470 и rs1800471) показал, что у детей – реципиентов печени имеет место отклонение от равновесного распределения для rs1800469 и rs1800470, тогда как у здоровых лиц встречаемость всех полиморфизмов соответствовала равновесию Харди-Вайнберга. Содержание TGF- β 1 в плазме крови детей с заболеваниями печени коррелировало с полиморфизмом rs1800469 *TGFB1*, более высокий уровень наблюдался у детей с генотипом GG по сравнению с теми, у которых определялся генотип AG. Выявлена связь аллеля A rs1800469 с развитием инфекционных осложнений у детей – реципиентов печени после трансплантации, что может свидетельствовать о предрасположенности к более частому развитию инфекций у детей-реципиентов с носительством аллеля A.

Выводы

1. В раннем посттрансплантационном периоде наиболее частыми осложнениями являются инфекционные (17,8%), в отдаленном периоде у 5,9% детей – реципиентов печени развивается дисфункция трансплантата.

2. Распределение генотипов и аллелей rs1800470 *TGFB1* у детей с печеночной недостаточностью достоверно отличалось от здоровых ($p = 0,04$). Концентрация цитокина TGF- β 1 в плазме крови детей-реципиентов до операции связана с полиморфизмом rs1800469 *TGFB1*: она достоверно выше у пациентов с генотипом GG, чем у таковых с генотипом AG ($p = 0,023$).
3. У детей – реципиентов печени не выявлено связи полиморфных вариантов rs1800469, rs1800470, rs1800471 *TGFB1* с развитием нежелательных иммунологических событий, дисфункцией трансплантата.
4. У детей – реципиентов печени с носительством аллеля A rs1800469 *TGFB1* риск развития инфекционных осложнений в раннем посттрансплантационном периоде в 3,8 раза выше, чем у детей с носительством аллеля G ($p = 0,02$).

Практические рекомендации

1. При обследовании пациентов с печеночной недостаточностью целесообразно проведение молекулярно-генетической диагностики полиморфизмов гена трансформирующего фактора роста β 1 для прогнозирования особенностей течения посттрансплантационного периода.
2. На основе генотипирования полиморфных вариантов *TGFB1* пациентам с острой и хронической печеночной недостаточностью целесообразно проводить определение риска развития инфекционных осложнений после трансплантации.
3. Пациентам с носительством аллеля A rs1800469 *TGFB1* рекомендовано наблюдение с целью ранней диагностики и профилактики инфекций после трансплантации печени

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Лечение стриктур билиодигестивного анастомоза после трансплантации левого латерального сектора печени / Монахов А.Р., МIRONKOV Б.Л., Восканов М.А., **Мещеряков С.В.**, Азоев Э.Т., Семаш К.О., Джанбеков Т.А., Силина О.В., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. XXII. – № 3. – С. 18–25.
2. Эффективность альбуминового диализа в качестве моста к трансплантации у детей с терминальными заболеваниями печени / Строков А.Г., Поз Я.Л., Монахов А.Р., **Мещеряков С.В.**, Восканов М.А., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. XXII. – № 3. – С. 36–42.
3. Роль полиморфизма гена трансформирующего фактора роста β 1 в развитии осложнений после трансплантации солидных органов / Курабекова Р.М., Гичкун О.Е., **Мещеряков С.В.**, Шевченко О.П. // Вестник транспланто-

гии и искусственных органов. – 2021. – № 23 (3). – С. 180–185. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2021-3-180-185>.

4. Исследование качества жизни родственных доноров фрагмента печени в отдаленном послеоперационном периоде / Готье С.В., Константинов В.К., Хизроев Х.М., Монахов А.Р., Джанбеков Т.А., **Мещеряков С.В.** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – № 19 (1). – С. 6–9.
5. Трансплантация левой доли печени от АВ0-несовместимого родственного донора с транспозицией внутренних органов (*situs inversus*) / Готье С.В., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г., Монахов А.Р., Хизроев Х.М., Цирульникова И.Е., **Мещеряков С.В.**, Джанбеков Т.А., Саранов Г.А., Абрамова Н.Н. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – № 16 (4). – С. 106–110.

Список сокращений

PELD (англ.,
Pediatric end-stage
liver disease)

– система оценки тяжести заболевания для детей
в возрасте до 12 лет

TGF- β 1 (англ.,
transforming
growth factor β 1)
TGF β 1

– трансформирующий фактор роста β 1
– ген, кодирующий цитокин TGF- β 1

UNOS (англ.,
United Network
for Organ Sharing)

– Объединенная сеть по распределению донорских
органов

АЖВП

– атрезия желчевыводящих путей

ГЖВП

– гипоплазия желчевыводящих путей

ГКГ

– главный комплекс гистосовместимости

ДНК

– дезоксирибонуклеиновая кислота

НМИЦ ТИО

– Национальный медицинский исследовательский
центр трансплантологии и искусственных органов

ОНП (англ., single
nucleotide
polymorphism,
SNP)

– однонуклеотидный полиморфизм

ОШ

– отношение шансов

ПВСХ

– прогрессирующий внутрипеченочный семейный
холестаз

ПЦР

– полимеразная цепная реакция

СА

– Синдром Алажиля

ЦМВ

– цитомегаловирус

НЕВРОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕЙ – РЕЦИПИЕНТОВ ДОНОРСКОЙ ПЕЧЕНИ

Сыркина А.В., Цирульникова О.М.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Психомоторное развитие – процесс приобретения навыков и умений, отражающих постнатальное созревание структур нервной системы ребенка. Самый активный период развития детей – возраст до 1 года жизни – связан с активным нейрогенезом и миелинизацией проводящих путей. Известно, что тяжелые соматические болезни, перенесенные в раннем детском возрасте, могут влиять на развитие, поведение детей и их способность к обучению [Dennis M. et al., 2013]. Нарушения развития и поведения, ментальные нарушения выявляют у детей с хроническими заболеваниями: хронической почечной недостаточностью [Kang N.R. et al., 2019], раком [Zahed G., 2020], лейкозом [Anestin A.S. et al., 2020], циррозом [Sun Y. et al., 2019], а также у детей – реципиентов донорской почки [Amatya K. et al., 2021].

Выживаемость детей с декомпенсированным циррозом становится правилом в настоящее время благодаря трансплантации печени. Выживаемость реципиентов трансплантата печени составляет 92,1% в течение первого года и 90,9% через 3 года после трансплантации печени [Monakhov A. et al., 2021]. Тогда как об уровне развития детей, переживших декомпенсированный цирроз на первом году жизни, информации мало.

Билиарная атрезия с неотвратимым формированием фиброза и цирроза печени уже на первом году жизни приводит к снижению детоксикации метаболитов, хроническому недоеданию, коагулопатии, дефициту факторов роста и избытку провоспалительных цитокинов, что в совокупности оказывает значимое влияние на развивающийся мозг младенца и может

способствовать задержке физического и психомоторного развития. Печеночная энцефалопатия, очевидно влияющая на психомоторное развитие и когнитивные способности пациентов, редко наблюдается у маленьких детей. Критерии этого диагноза размыты у данной категории пациентов. На первый план выходят такие причины задержки развития, как саркопения [Rezende I.F.B. et al., 2020; Merli M., 2020] анорексия [Sundaram S.S. et al., 2017], нейровоспаление и нейродегенерация [Murata K. et al., 2013; Rodijk L.H. et al., 2021].

Патогенез билиарного цирроза в исходе билиарной атрезии определяет данное заболевание как идеальную однородную модель для исследования развития детей – реципиентов донорской печени. Выживание детей с билиарной атрезией, прошедших трансплантацию печени, позволяет также исследовать школьное образование как отдаленный исход развития. Поиск факторов риска нарушений когнитивного развития позволит надежно выявлять детей, нуждающихся в специализированном (педагогическом и медицинском) раннем вмешательстве. Это, в свою очередь, улучшит когнитивные исходы у данной категории детей.

Степень проработанности темы

Результаты клинических исследований, посвященных развитию детей – реципиентов донорской печени, демонстрируют противоречивые данные. Только часть исследователей склонны связывать нарушения развития детей – реципиентов донорской печени с неудачным этапом портоэнтеростомии по Касаи [Ng V.L. et al., 2018; Caudle S.E. et al., 2012]. В основном исследователи сосредоточены на оценке влияния дооперационных уровней биохимических показателей на нарушение развития детей после трансплантации печени [Gilmour S.M. et al., 2010; Squires J.E. et al., 2020; Caudle S.E. et al., 2010]. В этом вопросе также нет согласованной точки зрения: часть исследований демонстрируют связь нарушений развития детей с уровнями альбумина, билирубина, индексом PELD до трансплантации [Sun Y. et al., 2019; Squires J.E. et al., 2020]. Сравнительный анализ исследований развития детей – реципиентов печени позволяет предположить связь противоречивых результатов с недостаточной гомогенностью исследуемых групп.

Сходство иммунологических механизмов патогенеза билиарной атрезии с нейровоспалением у детей с хроническими неврологическими заболеваниями позволяет предположить высокий уровень выявления болезней развития у детей с билиарной атрезией, таких как расстройство аутистического спектра (РАС). В изученной литературе отмечено повышение частоты встречаемости детей с низким уровнем коэффициента интеллекта и высокий процент «необучаемых» среди детей с билиарной атрезией, прошедших паллиативный хирургический этап перед трансплантацией

печени [Gold A. et al., 2017]. Исследования риска РАС среди детей с билиарной атрезией не проводились ранее.

Цель исследования

Обоснование тактики лечения детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии для оптимизации уровня психомоторного и когнитивного развития после трансплантации печени.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать неврологические особенности детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии до и после трансплантации печени.
2. Оценить уровень психомоторного и когнитивного развития детей – реципиентов донорской печени в зависимости от проведения паллиативной портоэнтеростомии по Касаи (ПЭС по Касаи) до и после трансплантации печени.
3. Провести анализ дооперационных антропометрических и биохимических показателей в связи с уровнем психомоторного развития детей в разные сроки после трансплантации печени.
4. Определить оптимальную тактику ведения детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии с учетом особенностей их дальнейшего развития.

Научная новизна

Впервые проведен анализ особенностей неврологического статуса детей с билиарной атрезией на этапе подготовки к трансплантации печени.

Впервые проведена сравнительная оценка уровня психомоторного развития детей российской популяции с билиарной атрезией, перенесших трансплантацию печени первым этапом, в сравнении с детьми с билиарной атрезией, перенесшими трансплантацию печени вторым этапом после паллиативной операции портоэнтеростомии по Касаи, и показано, что дети, демонстрирующие задержку развития в течение 12 месяцев после трансплантации печени, имели на 2,6 месяца большее время персистенции цирроза печени.

Впервые выполнена оценка детей с билиарной атрезией, перенесших трансплантацию печени, с помощью скрининговой методики выявления расстройств аутистического спектра.

Разработаны рекомендации по тактике лечения детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии с целью улучшения показателей психомоторного и когнитивного развития.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Проведенные исследования доказывают эффективность ранней трансплантации печени у детей с билиарной атрезией в отношении психомоторного и когнитивного развития.

Методология и методы исследования

В исследовании проведен сравнительный статистический анализ данных об уровне развития детей с билиарной атрезией до и после трансплантации печени, а также результатов скрининга риска расстройств аутистического спектра; проведен корреляционный анализ связи дооперационных биохимических и антропометрических показателей с развитием детей – реципиентов печени в разные периоды времени после трансплантации печени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Дети, перенесшие трансплантацию печени без предварительного паллиативного этапа хирургического лечения, имеют лучшие показатели психомоторного и когнитивного развития по сравнению с детьми, которым до трансплантации печени была выполнена паллиативная портоэнтеростомия по Касаи.
2. Задержка развития детей после паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи, предшествующего ортотопической трансплантации печени (ОТП), не компенсируется к школьному возрасту.
3. У детей с проведенной паллиативной портоэнтеростомией по Касаи риск расстройств аутистического спектра после трансплантации печени выше, чем у детей, которым ПЭС по Касаи не проводилась.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (131 пациент включен в исследование, из них 83 ребенка основной группы оценивались до ОТП и через 1, 3, 6 и 12 месяцев после ОТП, 48 детей школьного возраста набраны в дополнительную группу для оценки школьной успеваемости) с использованием современных методов статистической обработки.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются в хирургическом отделении № 2 и педиатрическом отделении Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также внедрены в учебный процесс на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Публикации по теме диссертации

По материалам исследования автором опубликовано 4 научные работы, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (3 статьи в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследовании принял участие 131 ребенок, перенесший трансплантацию печени по поводу декомпенсированного билиарного цирроза в исходе билиарной атрезии. Все дети прошли трансплантацию печени в НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова за период 2011–2020 гг.

Все дети были разделены на 2 группы: основную и дополнительную.

В основную группу было набрано 83 ребенка с целью оценки ранних исходов развития. Эти дети перенесли трансплантацию печени по поводу билиарного цирроза в исходе билиарной атрезии за период с мая 2018 года по май 2020 года (36 детей, трансплантированных без предшествующих операций, и 47 детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи в возрасте 1–3 месяца жизни). Портоэнтеростомию по Касаи дети проходили в различных региональных и федеральных клиниках Российской Федерации. При обращении в НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И.Шумакова детям был установлен диагноз билиарной атрезии с исходом в цирроз печени, осложненный печеночно-клеточной недостаточностью, портальной гипертензией, варикозным расширением вен пищевода, асцитом. У двух пациентов отмечалась клиническая картина явной печеночной энцефалопатии в виде угнетения сознания.

Критерии включения для основной группы:

1. Дети с диагнозом «билиарный цирроз» в исходе билиарной атрезии МКБ -10: Q44.2 – Атрезия желчных протоков.

2. Возраст на момент выполнения ортотопической трансплантации печени – до 12 месяцев включительно.

Критерии исключения для основной группы:

1. Отягощенный перинатальный анамнез: асфиксия в родах, ИВЛ после рождения, неонатальные судороги.
2. Иные приобретенные неврологические заболевания, влияющие на исходы развития: спонтанное внутримозговое кровоизлияние, эпилепсия, синдром двигательных нарушений.
3. Нейротоксические реакции на введение иммуносупрессантов.

Для оценки отдаленных исходов развития детей были набраны 48 детей школьного возраста, прошедшие трансплантацию печени в связи с билиарным циррозом в исходе билиарной атрезии в НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика Шумакова в период с июня 2011-го по апрель 2014 года.

Критерии включения дополнительной группы:

1. Дети с диагнозом «билиарный цирроз» в исходе билиарной атрезии. Диагноз в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра: Q44.2 – Атрезия желчных протоков.
2. Трансплантация печени в анамнезе.
3. Возраст на момент 01.09.2020 года 7 лет 11 мес. 29 дней в соответствии с Приказом № 458 Министерства просвещения РФ от 02.09.2020 [195].

Критерии исключения дополнительной группы:

1. Отягощенный перинатальный анамнез: асфиксия в родах, ИВЛ после рождения, неонатальные судороги.
2. Иные приобретенные неврологические заболевания, влияющие на исходы развития: спонтанное внутримозговое кровоизлияние, эпилепсия, синдром двигательных нарушений.
3. Нейротоксические реакции на введение иммуносупрессантов.

Методы исследования

Все дети из основной группы осматривались неврологом в соответствии с профессиональным стандартом 02.046. в определенные сроки: на этапе подготовки к трансплантации печени и через 1, 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации печени.

Для объективизации степени мышечной гипотонии, как проявления саркопии, у детей на этапе подготовки к трансплантации печени нами было выделено 2 степени снижения мышечного тонуса: легкая и тяжелая в зависимости от выполняемых проб. В табл. 1 представлены подробные характеристики степеней снижения мышечного тонуса.

Таблица 1

Характеристики степеней мышечной гипотонии

Симптомы и пробы	Мышечная гипотония	
	Легкая	Тяжелая
Увеличение амплитуды движений в суставах	+	+
Провисание в надплечьях при вертикальном подвешивании	+	+
Поза «лягушки»		+
Поза «складного ножа»		+
Отсутствует удержание головы в горизонтальном подвешивании		+
Не выполняет пробу на тракцию		+
Отсутствие мышечного сопротивления пассивным движениям		+

Исследование уровня психомоторного развития проведено с помощью Теста психомоторного развития по Гриффитс (перевод Кешишян Е.С.) для детей до 24 мес. Проведение теста предполагает оценку по субшкалам: крупной моторики, социальной адаптации, слуха и речи, зрительной функции, мелкой моторики, а также способности к действиям с предметами. Каждый моторный и немоторный навык оценивается определенным количеством баллов, затем баллы суммируются, а полученный результат сравнивается с нормативным. На основании этого можно сделать вывод о степени соответствия или несоответствия ребенка биологическому возрасту.

Для объективного сравнения степени отклонения нервно-психического развития детей разного возраста от нормы нами было выделено 3 категории:

- 1) общий уровень развития соответствует возрасту;
- 2) развитие задержано в пределах 3 месяцев от нормального;
- 3) развитие задержано более чем на 3 месяца от нормального.

В табл. 2 представлены числовые характеристики в 3 категориях в соответствии с результатами оценки по Тесту психомоторного развития по Гриффитс.

При дальнейших оценках развития в 1, 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации печени также использовались данные категории для формирования статистических массивов данных.

Для выявления риска РАС использовался Модифицированный тест на аутизм для детей, пересмотренный (M-CHAT-R, 2009) D. Robins, D. Fein, M. Barton, перевод на русский язык: A. Steinberg, I. Shpitsberg) для детей 16–30 мес. Тест предполагает выявление низкого, среднего и высокого риска РАС.

С целью изучения отдаленных нейрокогнитивных исходов нами был создан опросник, посвященный особенностям школьного образования. Опросник был разослан для заполнения семьям, имеющим детей – реципиентов печени, прошедших трансплантацию печени в НМИЦ транс-

Таблица 2

Характеристики категорий развития в зависимости от возраста и полученных результатов по тесту психомоторного развития по Гриффитс (перевод Кешишян Е.С.) для детей до 24 месяцев

Возраст, месяцы	Развитие соответствует возрасту, баллы	Задержка развития в пределах 3 месяцев, баллы	Задержка развития более 3 месяцев, баллы
4	30–60	15–30	<15
5	65–70	20–65	<25
6	75–80	25–74	<25
7	85–90	30–84	<30
8	100–105	65–99	<65
9	110–120	75–109	<75
10	125–130	85–124	<85
11	135–145	100–134	<100
12	150–155	110–149	<110
13	160–165	125–159	<125
14	170–175	135–169	<135
15	180–185	150–179	<150
16	190–195	160–189	<160
17	200	170–199	<170
18	205	180–204	<180
19	210–215	190–209	<190
20	220–225	200–219	<200
21	230–235	205–229	<205
22	240	210–239	<210
23	245	220–244	<220
24	250–255	230–249	<230

плантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова по поводу билиарного цирроза в исходе билиарной атрезии и подходящим по критериям включения и исключения. Опросник школьной успеваемости включал 9 вопросов, касающихся возраста поступления в школу, формы получения среднего образования, программы обучения, прохождения психолого-медико-педагогической комиссии до или во время обучения в школе, наличия дополнительного внешкольного образования, наличия коррекционных педагогических занятий во внешкольное время. На основании ответов на вопросы опросника оценивалось число детей, обучающихся по коррекционной или адаптированной и общеобразовательной программам.

В ходе работы был проведен анализ связи различных дотрансплантационных факторов (биохимических показателей до ОТП, показателей физического и психомоторного развития до ОТП) с уровнем психомо-

торного развития детей отдельно в каждой точке измерения: через 1, 3, 6 и 12 месяцев после трансплантации печени. А также проведен анализ связи портоэнтеростомии по Касаи и уровня биохимических показателей у детей с билиарной атрезией на этапе подготовки к трансплантации печени. Учитывались следующие дотрансплантационные показатели:

- масса тела;
- окружность плеча ниже 3 центиля;
- общий билирубин;
- прямой билирубин;
- альбумин;
- аланинаминотрансфераза (АЛТ);
- аспартатаминотрансфераза (АСТ);
- щелочная фосфатаза (ЩФ);
- международное нормализованное отношение (МНО);
- балл по шкале PELD (англ., Pediatric End-Stage Liver Disease, Шкала оценки терминальной стадии заболевания печени у детей).
- количество послеоперационных осложнений трансплантации печени.

Всем детям проводилась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) головного мозга. При наличии показаний также проводились дополнительные методы обследования: магнитно-резонансная томография головного мозга, электроэнцефалография.

Для статистического анализа использовались методы непараметрической статистики, коэффициент ранговой корреляции Спирмена, анализ отношения шансов. Уровень значимости был принят на уровне 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования развития детей до трансплантации печени и в течение 12 месяцев после проведения трансплантации печени

Клиническая характеристика детей с билиарным циррозом в исходе билиарной атрезии в период подготовки к трансплантации печени

Сравнительный анализ клинических характеристик детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи ($n = 47$) и без паллиативного этапа ($n = 36$), показал значимые различия в возрасте на момент трансплантации печени. У детей, прошедших портоэнтеростомию по Касаи, средний возраст на момент трансплантации печени был 9,1 месяца против 6,5 месяца у детей без ПЭС по Касаи. Разница среднего возраста на момент трансплантации печени в подгруппах составила 2,6 месяца ($p = 0,011$). Тогда как показатели антропометрии, средний балл по шкале PELD не отличались в подгруп-

пах. По одному ребенку в каждой подгруппе демонстрировали признаки явной печеночной энцефалопатии в виде угнетения уровня сознания до 13–14 баллов по педиатрической шкале комы Глазго.

Все дети в подгруппах имели диффузную мышечную гипотонию в 100% случаев. Степени выраженности мышечной гипотонии приведены в табл. 3.

Таблица 3

Степени мышечной гипотонии в подгруппах

Степень мышечной гипотонии	Портоэнтеростомия по Касаи не проводилась, n = 36	Портоэнтеростомия по Касаи проводилась, n = 47	Достоверность
Легкая, n (%)	19 (52,8)	24 (51)	p = 0,88
Тяжелая, n (%)	17 (47,2)	23 (49)	p = 0,88

Разница в подгруппах была статистически незначима.

Соответствие уровня развития биологическому возрасту оценивалось с помощью Шкалы психомоторного развития Гриффитс (в переводе Кешишян Е.С.). 34 ребенка демонстрировали задержку развития: 14 детей без паллиативного этапа и 32 ребенка подгруппы ПЭС по Касаи. Тогда как показатели уровня развития мелкой моторики, речевого и социального развития были представлены в соответствии с возрастом, выявлены отклонения в показателях моторного развития ($p = 0,0018$). На рис. 1 представлено число детей на этапе подготовки к трансплантации печени с нормальным и отклоняющимся от нормы развитием в зависимости от проведения паллиативного этапа ПЭС по Касаи.

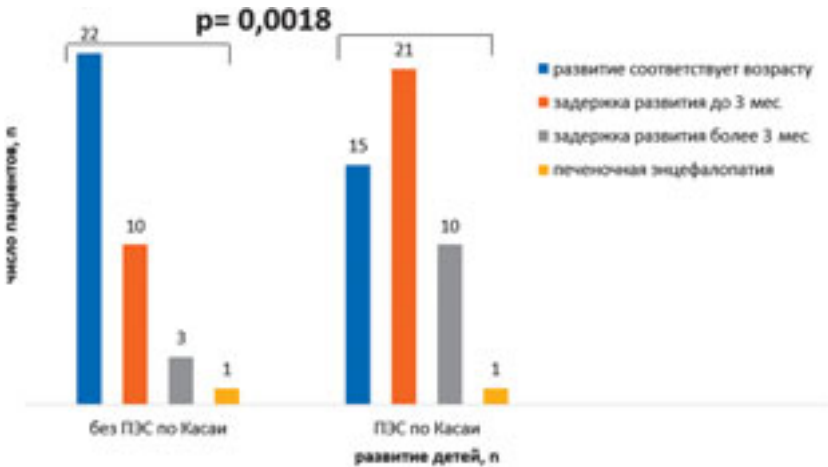


Рис. 1. Уровни развития детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии на этапе подготовки к трансплантации в подгруппах (ПЭС – портоэнтеростомия)

Нами был проведен анализ наличия задержки развития в зависимости от проведения ПЭС по Касаи. В табл. 4 приведены анализируемые данные.

Таблица 4

Анализ наличия задержки развития детей на этапе подготовки к трансплантации печени в зависимости от проведения паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи

Показатель	Категория исхода	Наличие задержки развития		Достоверность
		Задержка развития	Развитие соответствует возрасту	
ПЭС по Касаи, абс (%)	Проведена ПЭС по Касаи	32 (68)	15 (32)	p = 0,0018*
	Не проводилась ПЭС по Касаи	14 (39)	22 (61)	

Примечание. * – различия показателей статистически связаны ($p < 0,05$); ПЭС – портоэнтеростомия.

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

Степени регресса моторного развития у детей в подгруппах продемонстрированы в табл. 5.

Таблица 5

Задержка темпов прироста моторных навыков у детей до 12 месяцев перед трансплантацией

Потеря навыка	ПЭС по Касаи не проводилась n = 36	ПЭС по Касаи проводилась n = 47	Достоверность
Не удерживали голову старше 3 мес., n (%)	6 (16,7)	6 (12,8)	p = 0,62
Не переворачивались после 5 мес., n (%)	10 (27,8)	12 (25,5)	p = 0,82

Примечание. * ПЭС – портоэнтеростомия.

Подгруппы статистически не отличались по регрессу моторных навыков.

Таким образом, дети с циррозом печени в исходе билиарной атрезии, готовящиеся к трансплантации печени, имеют особенности неврологического статуса: диффузная мышечная гипотония от легкой до тяжелой степени в 100% случаев, задержка психомоторного развития с разбросом

отставания от 1 до 5 месяцев, 25–27% детей утратили навык переворота, 12–17% детей утратили навык удержания головы. Шансы задержки развития на этапе подготовки к трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 3,3 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95%, ДИ 1,35–8,31).

Результаты инструментальных обследований детей до трансплантации печени

Мультиспиральная компьютерная томография головного мозга проводилась всем детям на этапе подготовки к трансплантации печени. Неспецифические изменения были найдены в 6 случаях. У одного ребенка 9 месяцев без данных о перенесенном ранее остром нарушении мозгового кровообращения или черепно-мозговой травме выявлена субарахноидальная киста в правой лобной доле $5,6 \times 4,2 \times 3,1$ мм. Расширение наружных ликворных пространств без блока ликвородинамики по данным мультиспиральной компьютерной томографии найдено у 5 детей младше 5 мес. Подобные изменения трактовались как неспецифические и связанные с ростом и созреванием.

Анализ антропометрических и биохимических дооперационных показателей у детей с билиарной атрезией

У детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, отмечался низкий уровень прямого и общего билирубина. ($p = 0,003$, $p = 0,001$ соответственно). Медиана уровня общего билирубина в подгруппе детей без портоэнтеростомии по Касаи составляла 472,3 [363–568,3] мкмоль/л, тогда как в группе детей с проведенной портоэнтеростомией по Касаи уровень были ниже – 314,6 [220,4–436] мкмоль/л ($r = 0,7$, $p = 0,001$). Медиана уровня прямого билирубина в подгруппе детей без портоэнтеростомии по Касаи составляла 184,1 [142,15–237,6] мкмоль/л, тогда как в группе детей с проведенной портоэнтеростомией по Касаи показатели были меньше – 124,8 [84,3–162,4] мкмоль/л ($r = 0,6$, $p = 0,003$).

В подгруппах не выявлено разницы по остальным биохимическим и антропометрическим показателям.

Таким образом, у детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, отмечается низкий уровень прямого и общего билирубина. ($p = 0,003$, $p = 0,001$ соответственно).

Клинические характеристики детей после трансплантации печени

Все дети в исследовании перенесли трансплантацию печени. У 80 детей был родственный донор первой или второй степени родства. В 9 случаях проведена АВ0-несовместимая трансплантация. Все дети получали стандартный протокол иммуносупрессии.

Среди послеоперационных осложнений выделяли: инфекционные, хирургические, сосудистые, неврологические и иные. Бремя осложнений было выше у детей, перенесших паллиативный этап перед трансплантацией печени, в частности инфекционных осложнений, ателектаза доли легкого и двух осложнений одновременно. Однако послеоперационные осложнения не влияли на восстановление психомоторного статуса через 1 месяц после трансплантации печени ($p = 0,65$).

Через 1 месяц после трансплантации печени 15 детей (32%) из группы паллиативного этапа и только 2 детей (5,6%) из группы без паллиативного этапа имели задержку развития в пределах 3 месяцев. Разница в группах была статистически достоверной, $p = 0,04$. На рис. 2 представлена динамика психомоторного развития через 1 месяц после трансплантации.

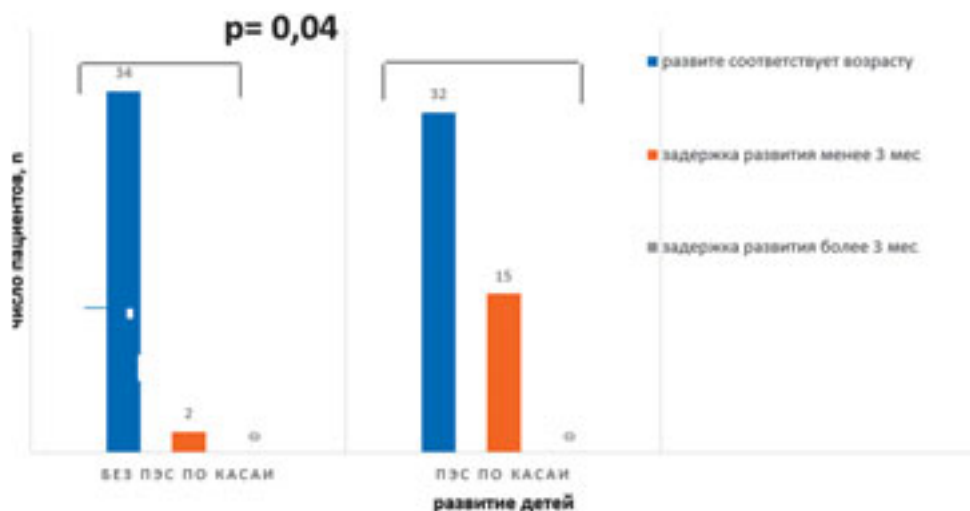


Рис. 2. Уровни развития детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии через 1 месяц после трансплантации в подгруппах (ПЭС – портоэнтеростомия)

Нами был проведен анализ наличия задержки развития у детей через 1 месяц после ОТТП в зависимости от проведения ПЭС по Касаи. В табл. 6 приведены анализируемые данные. Шансы задержки развития на этапе подготовки к трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 7,9 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95%, ДИ 1,68–37,6).

Таким образом, через 1 месяц после трансплантации печени дети без паллиативного этапа демонстрировали лучшие темпы восстановления, чем дети, прошедшие ПЭС по Касаи.

Скачок психомоторного развития происходил между первым и третьим месяцем после трансплантации. В домашних условиях активно шло

Таблица 6

**Анализ наличия задержки развития детей через 1 месяц
после трансплантации печени в зависимости от проведения
паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи**

Показатель	Категория исхода	Наличие задержки развития		Достоверность
		Задержка развития	Развитие соответствует возрасту	
ПЭС по Касаи, абс. (%)	Проведена ПЭС по Касаи	15 (32)	32 (68)	p = 0,04*
	Не проводилась ПЭС по Касаи	2 (5,6)	34 (94,4)	

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

восстановление мышечной массы, мышечной силы и набор моторных навыков. Быстрый темп набора моторных навыков мы видели на амбулаторном визите через 3 месяца после трансплантации. В группе ПЭС по Касаи 15 (39,1%) детей имели задержку развития в пределах 3 месяцев против 7 детей (19,5%) в группе без паллиативного этапа. 3 ребенка (6,4%), прошедшие паллиативный этап, демонстрировали задержку развития более 3 месяцев. Разница между группами была статистически незначима ($p = 0,11$).

Через полгода после трансплантации становилась заметной разница развития в подгруппах, а именно: дети, прошедшие паллиативный этап, останавливались или значительно замедлялись в развитии по сравнению с детьми без ПЭС по Касаи. Разница была заметна не только в крупной моторике и наборе двигательных навыков, но в первую очередь в предречевом и социальном развитии. 38,3% детей, прошедших паллиативный этап ПЭС по Касаи, через полгода после трансплантации имели задержку развития против 11,1% детей без ПЭС по Касаи ($p = 0,02$). На рис. 3 представлена динамика развития детей через 6 месяцев после трансплантации печени в подгруппах.

Нами был проведен анализ наличия задержки развития детей через 6 месяцев после трансплантации печени в зависимости от проведения ПЭС по Касаи. В табл. 7 приведены анализируемые данные.

Шансы задержки развития на этапе через 6 месяцев после трансплантации печени в подгруппе детей, прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, в 4,9 раза выше по сравнению с детьми без паллиативного этапа (95%, ДИ 1,5–16,39).

Через 12 месяцев после трансплантации печени дети из подгруппы прошедших паллиативный этап портоэнтеростомии по Касаи, демонстрировали задержку развития в 47% случаев против 16,7% у детей подгруппы без

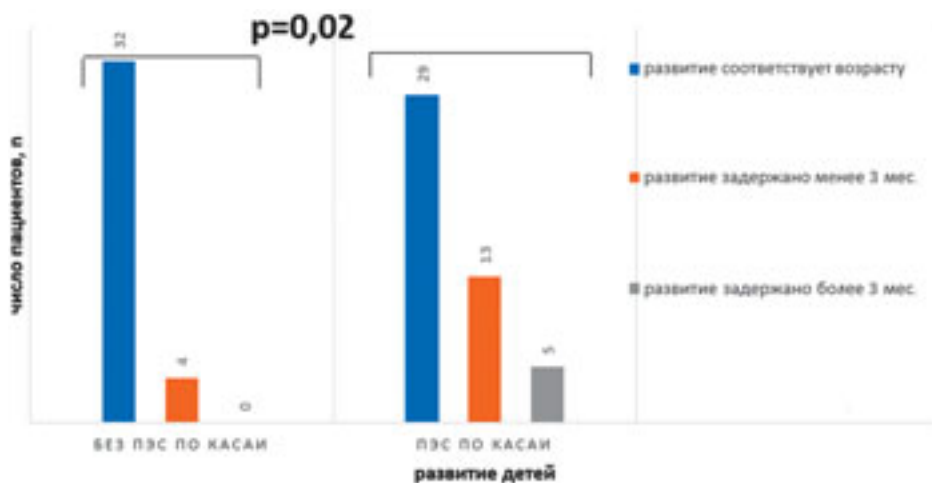


Рис. 3. Уровни развития детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии через 6 месяцев после трансплантации печени в подгруппах (ПЭС – портоэнтеростомия)

Таблица 7

Анализ наличия задержки развития через 6 месяцев после трансплантации печени в зависимости от проведения паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи

Показатель	Категория исхода	Наличие задержки развития		Достоверность
		Задержка развития	Развитие соответствует возрасту	
ПЭС по Касаи, абс. (%)	Проведена ПЭС по Касаи	18 (38)	29 (62)	p = 0,02*
	Не проводилась ПЭС по Касаи	4 (11)	32 (89)	

Примечание. * – различия показателей статистически связаны (p < 0,05).

ПЭС по Касаи (p = 0,01). Рис. 4 иллюстрирует разницу между развитием детей в подгруппах.

Нами был проведен анализ наличия задержки развития детей через 12 месяцев после трансплантации печени в зависимости от проведения ПЭС по Касаи. В табл. 8 приведены анализируемые данные.

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

Среди детей, демонстрирующих задержку развития, 7 детей (14,9%) имели средний или высокий риск РАС по шкале M-CHAT-R, 4 ребен-

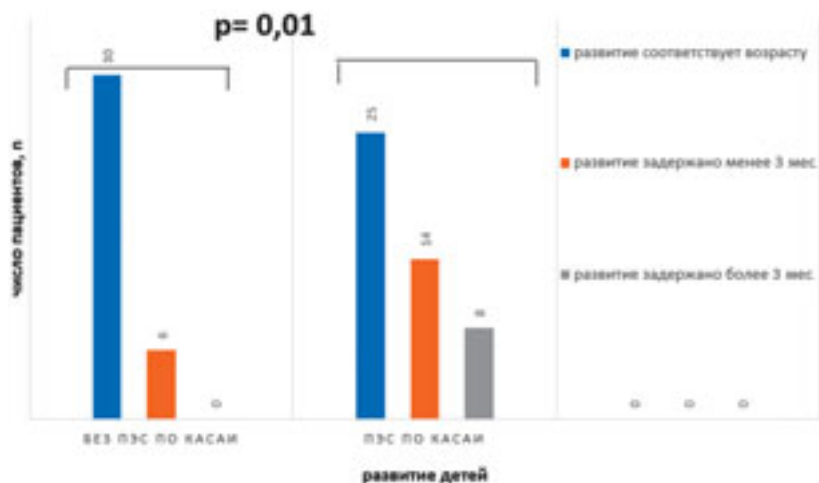


Рис. 4. Уровни развития детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии через 12 месяцев после трансплантации печени в подгруппах (ПЭС – портоэнтеростомия)

Таблица 8

Анализ наличия задержки развития детей через 12 месяцев после трансплантации печени в зависимости от проведения паллиативного этапа портоэнтеростомии по Касаи

Показатель	Категория исхода	Наличие задержки развития		Достоверность
		Задержка развития	Развитие соответствует возрасту	
ПЭС по Касаи, абс. (%)	Проведена ПЭС по Касаи	22 (46,8)	25 (53,2)	p = 0,01*
	Не проводилась ПЭС по Касаи	6 (16,7)	30 (83,3)	

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

ка (8,5%) – задержку речи с низким риском расстройств аутистического спектра (менее 2 б по шкале М-СНАТ), остальные 11 детей (23,4%) демонстрировали разные степени недоразвития речи. Данные представлены в табл. 9.

Разница в подгруппах в отношении среднего и высокого риска РАС была статистически значимой, $p = 0,04$.

Сравнительный анализ распространенности риска РАС в российской популяции детей 18–48 месяцев, равный 13%, и риска РАС у детей с билиарной атрезией, прошедших ПЭС по Касаи перед трансплантацией печени, составляющий 14,9%, не показал достоверной разницы ($p = 0,68$). Тогда как дети, прошедшие паллиативный этап ПЭС по Касаи, демонстрировали

Таблица 9

**Варианты отклонений в развитии детей через 12 месяцев
после трансплантации**

Виды отклонений развития	ПЭС по Касаи не проводилась, n = 36	ПЭС по Касаи проводилась, n = 47	Досто-верность
Всего детей с задержкой развития, n (%)	6 (16,7)	22 (46,8)	p = 0,01
М-СНАТ (R) < 26 Задержка речи, n (%)	1 (2,8)	12 (25,5)	p = 0,04
Задержка развития более 3 месяцев, n (%)	0	8 (17)	p = 0,008
М-СНАТ (R) = 3–76 или М-СНАТ (R) > 86 Задержка речи, n (%)	0	5 (10,6)	p = 0,04

Примечание. М-СНАТ (R) – Модифицированный тест на аутизм, пересмотренный; РАС – расстройство аутистического спектра; ПЭС – портоэнтеростомия.

достоверно чаще средний и высокий риск развития РАС, чем дети без ПЭС по Касаи (p = 0,04).

**Оценка антропометрических и биохимических параметров
в подгруппах детей после трансплантации печени**

В ходе исследования выявлена связь дооперационных биохимических показателей, связанных с дальнейшим развитием детей – реципиентов донорской печени. Повышенный уровень АЛТ 214,9 [151,1–309,9] Ед./л до трансплантации печени был связан с отставанием моторных и когнитивных навыков через 1 месяц после ОТТП (r = 0,4, p = 0,016). Относительно низкий уровень общего билирубина 293 [220,4 – 426,9] мкмоль/л после ПЭС по Касаи не улучшил прогноз развития детей через 12 месяцев после ОТТП (r = –0,5, p = 0,04). Задержка психомоторного развития до трансплантации была связана с отставанием от сверстников через 6 и 12 месяцев после ОТТП (r = 0,7, p = 0,001, и r = 0,6, p = 0,003 соответственно).

**Результаты исследования школьного образования детей
старше 8 лет, перенесших трансплантацию печени
по поводу билиарного цирроза в исходе билиарной атрезии**

По результатам опроса школьной успеваемости среди детей дополнительной группы (n = 48) выявлено 8,3% детей, которым потребовалась адаптированная учебная программа в школе, предполагающая увеличение времени на выполнение учебных задач, отличную от массовой школы систему

оценивания учебных результатов. Все эти дети прошли трансплантацию печени вторым этапом после паллиативной портоэнтеростомии по Касаи.

87,5% детей обучаются по программе массовой школы. 72,9% детей посещают школу очно наравне с другими детьми. 66,7% детей были «хорошистами», т. е. их средний балл по итогам 2019–2020 учебного года был в интервале 3,5 – 4,4. 70,8% детей посещали очные кружки и секции во внешкольное время. Из них 2 ребенка посещали одновременно 5 секций, 1 ребенок – 4 секции, 4 детей – 3 секции, 10 детей – 2 секции, остальные 17 детей посещали одну внешкольную секцию. Выбор направления внешкольного образования отражен в табл. 10.

Таблица 10

Виды внешкольного образования, посещаемые детьми – реципиентами донорской печени, в 2020–2021 учебном году

Секция	Число детей, посещающих секцию
Театральная студия	14
Гимнастика	14
Изобразительное и прикладное искусство	10
Боевые искусства	8
Танцы	6
Английский язык	5
Шахматы	5
Музыкальная школа	4
Бассейн	3
Вокал	3
Игровые виды спорта	2
Информатика	1
Робототехника	1

Таким образом, можно заключить, что долгосрочные исходы развития детей выявили трудности получения школьного образования у 8,3% детей – реципиентов печени старше 8 лет. Все дети, обучающиеся по адаптированным школьным программам, прошли паллиативный этап ПЭС по Касаи до ОТПП.

Выводы

1. Дети с циррозом печени в исходе билиарной атрезии, готовящиеся к трансплантации печени, имеют особенности неврологического статуса: диффузная мышечная гипотония (100%), задержка психомоторного развития (39–68%), потеря навыка переворота (25–27%), потеря навыка удержания головы (12–17%). После трансплантации

- печени: в течение 1 месяца 68–94,4% детей – реципиентов печени восстановили уровень психоневрологического развития; через 3 месяца 53,6–80,5% детей развивались по возрасту; через 6 месяцев – 55,3–88,9%; через 12 месяцев 53,2–83,3% детей-реципиентов.
2. У детей, перенесших трансплантацию печени после паллиативного этапа хирургического лечения, уровень психомоторного и когнитивного развития ниже, чем у детей без паллиативной портоэнтеростомии по Касаи как до, так и через 1, 6 и 12 месяцев после трансплантации печени ($p = 0,018$; $p = 0,04$; $p = 0,02$; $p = 0,01$ соответственно). Отставание в развитии детей, перенесших портоэнтеростомию по Касаи, сохраняется в школьном возрасте. Средний и высокий риск расстройств аутистического спектра у детей, перенесших портоэнтеростомию по Касаи перед трансплантацией печени, выявлялся у детей после портоэнтеростомии по Касаи в 14,9% в сравнении с 5,6% детей без портоэнтеростомии по Касаи ($p = 0,02$).
 3. У детей – реципиентов печени с низким уровнем психомоторного развития через 1 месяц после трансплантации печени достоверно выше дооперационный уровень АЛТ ($p = 0,016$). У детей – реципиентов печени с низким содержанием общего билирубина после портоэнтеростомии по Касаи уровень развития через 12 месяцев после трансплантации печени ниже, чем у реципиентов печени без паллиативного этапа ($p = 0,04$). Выявлена корреляция задержки психомоторного развития до трансплантации печени и отставания от сверстников через 6 и 12 месяцев после трансплантации печени ($r = 0,7$, $p = 0,001$, и $r = 0,6$, $p = 0,003$ соответственно).
 4. Трансплантация печени без паллиативного этапа хирургического лечения позволяет улучшить психомоторное развитие детей с циррозом печени в исходе билиарной атрезии в 2,8 раза в первый год после трансплантации и создает возможность получать образование наравне с другими детьми в массовой школе.

Практические рекомендации

1. На этапе подготовки к трансплантации печени дети с билиарной атрезией должны осматриваться неврологом с целью оценки периперационных рисков возникновения неврологических осложнений, прогноза развития ребенка, отбора детей, которым необходима послеоперационная абилитация, реабилитация и программы раннего вмешательства. Для оценки дооперационного статуса при проведении неврологического осмотра целесообразно использовать степени оценки тяжести мышечной гипотонии.
2. Неврологический осмотр проводится детям с циррозом печени в исходе билиарной атрезии на этапе подготовки к трансплантации пе-

- чени и в период 1, 6 и 12 месяцев после трансплантации печени. Для оценки уровня психомоторного развития детей на всех этих этапах следует использовать тест психомоторного развития по Гриффитс в переводе и адаптации Е.С. Кешишян (для детей до 24 месяцев жизни).
3. Для выявления среднего и высокого риска расстройств аутистического спектра детям, прошедшим трансплантацию по поводу цирроза в исходе билиарной атрезии, следует проводить Модифицированный тест на аутизм, пересмотренный (М-CHAT-(R)) с 16 до 30 месяцев жизни. Детей с высоким риском РАС следует направлять к детскому психиатру для старта психолого-педагогических программ раннего вмешательства.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Особенности нервно-психического развития детей с билиарной атрезией после трансплантации печени / **А.В. Сыркина** [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 66–72.
2. Острые симптоматические судорожные приступы в раннем послеоперационном периоде трансплантации печени, почки / О.М. Цирульников, **А.В. Сыркина** [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 2. – С. 158–166.
3. Анализ отношения шансов задержки развития у детей с билиарной атрезией через 12 месяцев после трансплантации печени / **А.В. Сыркина** [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 24. – № 4. – С. 8–12.

Список сокращений

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
ЖКК	– желудочно-кишечное кровоизлияние
МКБ	– международная классификация болезней
МНО	– международное нормализованное отношение
ОТПП	– ортотопическая трансплантация печени
ПЭС	– портоэнтеростомия
РАС	– расстройства аутистического спектра
ЩФ	– щелочная фосфатаза
IQ	– коэффициент интеллекта
М-CHAT (R)	– аббревиатура Модифицированного теста на аутизм, пересмотренного
PELD	– (англ., Pediatric End-Stage Liver Disease). Шкала оценки терминальной стадии заболевания печени у детей

МОДЕЛЬ БАЛЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ДОНОРОВ СЕРДЦА

Тенчурина Э.А., Минина М.Г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Эффективность трансплантации сердца определяется максимально возможным использованием имеющегося донорского ресурса, подразумевая, что каждое донорское сердце рассматривается для трансплантации во избежание потери «рабочего» донорского органа [Николаев Г.В. и соавт., 2015]. Если предположить, что все сердечные трансплантаты будут успешно пересажены, проблема нехватки органов станет менее острой [Russo M.J. et al., 2009]. Однако клиницисты, сталкиваясь с трансплантатами сердца от доноров с расширенными критериями, склонны чаще принимать решение об отказе от органа, опасаясь негативного влияния факторов риска донора на исход трансплантации сердца [Smits J.M. et al., 2012]. Несмотря на нехватку органов, только 39,2% из заявленных в Eurotransplant доноров в 2010 году были рассмотрены в качестве возможных доноров сердца, и из них только 66,6% стали эффективными донорами [Eurotransplant, 2010]. Кроме того, в отличие от США, где начиная с 2000-х годов не наблюдается роста числа эффективных доноров сердца с расширенными критериями [Nativi J.N. et al., 2010], средний возраст доноров сердца в Европе продолжает увеличиваться, составив 34 года в 1996 году, 36 лет в 2000-м и 43 года в 2010 году [Eurotransplant, 2010].

В Российской Федерации наряду с общеевропейской тенденцией отмечается повышение среднего возраста доноров сердца, а также рост количества доноров с расширенными критериями. Так, в 2012 году средний возраст доноров сердца в Москве был равен 38,4 года, а в 2017 году – 47,0 года. Важно отметить ведущую роль ФГБУ «НМИЦ ТИО им. академика В.И. Шумакова» в инициации и формировании практики работы с донорами, имеющими расширенные критерии, что внесло значимый

вклад в развитие ТС в РФ [Попцов В.Н. и соавт., 2017]. За последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в развитии донорства и трансплантации сердца в отдельных субъектах нашей страны. Наиболее активно такое развитие наблюдалось в Москве благодаря целому ряду организационных мероприятий, получивших название «московской модели» донорства органов [Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 19.10.2017 № 7374; Минина М.Г., 2016]. К настоящему времени накопленный опыт работы с «неидеальными» донорами сердца нуждается в исследовании с целью оптимизации селекции донорского сердца для трансплантации.

В современных условиях, когда число стандартных доноров крайне невелико и большинство доноров находится в т. н. серой зоне между «идеальными» и «непригодными», необходимо минимизировать число отказов от доноров, чьи сердца могут быть использованы для трансплантации. Для достижения вышеуказанной цели необходимы инструменты первичной оценки донорского сердца для селекции доноров на ранних этапах донорского процесса [Smits J.M., et al., 2012].

Цель исследования

Повысить эффективность использования доноров сердца посредством разработки системы оценки донорских факторов, влияющих на отказ от сердца для трансплантации.

Задачи исследования

1. Оценить динамику развития трансплантаций сердца в Москве в 2012–2017 гг. и выявить факторы, способствующие росту числа трансплантаций сердца.
2. Выполнить сравнительный анализ характеристик доноров, чьи сердца использовались и не использовались для трансплантации.
3. Выполнить анализ всех донорских факторов риска и отобрать факторы, достоверно влияющие на отказ от сердца для трансплантации.
4. Разработать модель (систему) балльной оценки доноров сердца, и на ее основе создать классификацию доноров сердца с позиции отказа от использования сердца для трансплантации.
5. Сформировать когорту эффективных доноров для валидации модели и оценки ее функциональных качеств путем определения чувствительности и специфичности, и ROC-анализа.
6. Оценить показатели 30-дневной и 1-летней выживаемости реципиентов трансплантированного сердца.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации детально исследован большой количественный пул эффективных доноров сердца, составивший 650 доноров за период 2012–2017 гг. Установлена прямая взаимосвязь между ростом общего числа эффективных доноров на миллион населения в год и увеличением числа эффективных доноров сердца. Так, в Москве в 2012 году зарегистрировано 6,8 эффективных донора на миллион населения в год, при этом число эффективных доноров сердца составило 4,4 на миллион населения в год, в 2017 году уровню донорской активности 15,5 донора соответствует 11,2 донора сердца.

Выполнен сравнительный анализ среднего возраста доноров сердца в Москве – 47,0 года, в Европе – 43,0 года, в Северной Америке 25–27 лет, что говорит о стремительном накоплении опыта работы в Москве с донорами, имеющими расширенные критерии. О расширении критериев донорства сердца свидетельствует увеличение в 2,2 раза в когорте эффективных доноров лиц, умерших вследствие сосудистой патологии головного мозга, 38,2% в 2012 году vs 83,2% в 2017 году.

Впервые в России изучен вопрос текущей практики селекции доноров сердца для трансплантации. Получены данные, что чаще отказывались от доноров сердца старше 50 лет, умерших в результате сосудистого повреждения мозга, имевших коморбидные состояния, неудовлетворительные показатели гемодинамики и уровня лактата крови перед эксплантацией.

Выполнен детальный анализ донорских факторов риска и отказа от использования сердца для трансплантации и установлен перечень факторов, статистически достоверно повлиявших на отказ от донорского сердца.

Впервые в России разработана собственная математическая модель оценки сердца в баллах, прогнозирующая риск отказа от трансплантации сердца.

Впервые оценены показатели госпитальной и годовой выживаемости для групп реципиентов трансплантируемого сердца от доноров высокого и низкого рисков, согласно разработанной балльной модели.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования указывают на высокую распространенность доноров повышенного риска в популяции доноров сердца.

Выявленные в результате исследования множественные предикторы отказа от донорского сердца для трансплантации свидетельствуют о необходимости комплексной оценки донорского сердца с применением балльной модели.

Классификация доноров сердца, созданная на основе итоговой оценки доноров, полученной с использованием модели, определяет доноров сердца с позиции высокого и низкого риска отказа от трансплантации.

Комплексная оценка донорских факторов риска, полученная с использованием модели, позволяет модифицировать текущую практику селекции

доноров сердца, основанную преимущественно на результатах инструментального обследования донора.

Разработанная балльная модель оценки донорского сердца является доступным и объективным инструментом для использования специалистами донорской службы в процессе селекции сердца для трансплантации.

Сравнительный анализ показателей выживаемости для групп реципиентов трансплантируемого сердца от доноров высокого риска и доноров низкого риска свидетельствует об эффективности и обоснованности использования доноров сердца с расширенными критериями для трансплантации.

Методология и методы исследования

В исследовании представлен ретроспективный анализ клинических данных, полученных из карт наблюдения репрезентативной когорты доноров сердца в период с 2012-го по 2017 год. Пул доноров был разделен на эффективных доноров сердца и эффективных доноров с отказом от сердца для трансплантации. Для анализа результатов использовались методы параметрической и непараметрической статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Пул эффективных доноров сердца подвергся значительным качественным и количественным изменениям за исследуемый период. Отмечается преобладание доноров старше 50 лет, умерших в результате сосудистой патологии головного мозга, с частотой коморбидных заболеваний у каждого третьего донора.
2. Доноры с отказом от трансплантации сердца в сравнении с эффективными донорами сердца старше по возрасту, с высокой частотой коморбидных заболеваний, преобладанием смерти по причине сосудистой патологии головного мозга. У таких доноров чаще фиксировались неудовлетворительные показатели гомеостаза и гемодинамики.
3. Характеристики доноров сердца, продемонстрировавшие достоверную степень влияния на отказ от донорского сердца для трансплантации, преобразованы в балльную систему оценки, позволяющую выявлять доноров высокого и низкого риска отказа от трансплантации на самом начальном этапе селекции донора.
4. Модификация текущей практики селекции донорского сердца, включающая разработанную модель оценки, позволяет повысить эффективность использования доноров сердца минимум на 10,8%.
5. Госпитальная и 1-летняя выживаемость реципиентов, получивших сердца от доноров высокого и низкого риска, сопоставимы, что указывает на обоснованность расширения критериев селекции доноров сердца при оказании трансплантологической помощи.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется размером выборки донорского пула, состоящей из 650 эффективных доноров со смертью головного мозга, анализом данных лабораторных и клинических методов обследования доноров с применением современных статистических методов обработки.

Внедрение в практику

Результаты, полученные в ходе данного исследования, используются в текущей практике Московского городского координационного центра органного донорства Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, в кардиохирургическом отделении № 3 Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в учебном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Публикации

По материалам исследования автором опубликовано 5 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 3 статьи в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science), 1 статья в зарубежном издании.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из четырех глав: введения, обзора литературы, посвященной критериям селекции донорского сердца, материалов и методов исследования, двух глав собственных результатов исследования, а также обсуждения, выводов и практических рекомендаций, списка используемой литературы, включающего 138 источников, в том числе 22 отечественных и 116 зарубежных. Работа изложена на 118 страницах машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками, содержит 10 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В настоящем исследовании использованы клинические данные 650 доноров со смертью головного мозга, у которых были выполнены эксплантации органов в период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года. На начальном этапе исследованы базовые показатели, характеризующие донорскую активность в городе Москве – число эффективных доноров (ЭД) на млн нас. в год, характеристики общего пула ЭД и доноров сердца, в частности – средний возраст доноров, медиана возраста, гендерное соотношение, соотношение нозологий, явившихся причиной смерти доноров. Динамика развития донорства сердца в Москве представлена числом ЭД сердца на млн нас. в год, частотой эксплантаций донорского сердца в сравнении с другими экстраренальными органами. Все вышеприведенные базовые показатели сравнивались с аналогичными показателями ряда стран Европы и Северной Америки.

Далее все исследуемые доноры были разделены на две группы. В первую группу были включены 452 донора (64,4%), у которых выполнялось изъятие сердца для трансплантации изолированно либо в формате мультиорганного изъятия. Вторую группу составили 198 (35,6%) доноров, у которых эксплантация сердца не производилась, при этом другие органы как использовались, так и не использовались для трансплантации.

Исследовались факторы донора, «традиционно» определяющие качество донорского сердца – возраст, пол, причина смерти, анамнестические данные о гипертонической болезни (ГБ) и сахарном диабете (СД), наличие прижизненной патологии сердца и его острых травматических повреждений, наличие эпизодов остановки кровообращения с последующим восстановлением сердечной деятельности и ряд факторов, характеризующих гомеостаз донора – среднее артериальное давление (САД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), pH артериальной крови, лактат артериальной крови, гемоглобин, калий, натрий, глюкоза, мочевины, креатинин крови. Факторы гомеостаза донора учитывались в двух временных точках – при первичном осмотре возможного донора и непосредственно перед изъятием донорских органов, после выполнения протокола кондиционирования донора со смертью мозга (СМ).

Для оценки влияния донорских факторов на использование сердца для трансплантации применялся метод многомерной логистической регрессии. Степень влияния каждого из донорских факторов определялась расчетным отношением шансов (ОШ). Факторы, показавшие статистическую значимость, были включены в модель. Итоговая оценка донора сердца в баллах рассчитывалась путем суммирования значения ОШ по каждому из факторов донора. Точкой отсечения стало среднее значение суммы бал-

лов в валидационном пуле, составляющее 18 баллов, на основании чего определены доноры низкого риска (ДНР), когда итоговая оценка в баллах с позиции прогнозирования отказа от использования донорского сердца для трансплантации составила ≤ 17 баллов, и доноры высокого риска (ДВР), с итоговой оценкой ≥ 18 баллов. Для валидации представленной модели использовали пул доноров в количестве 250 за период с 1 января по 31 декабря 2019 г.

Статистический анализ данных выполнялся с использованием компьютерных программ Statistica for Windows 7.0 (StartSoftInc.США) и SPSS STATISTICS 20.0 (IBM SPSS Inc., США). Среди методов описательной статистики использовались меры центральной тенденции – мода, медиана, среднее арифметическое. В зависимости от количества сравниваемых параметров выполнялся одномерный или многомерный анализ данных. Демонстрация достоверности результатов оценивалась методом доверительных интервалов, пороговое значение которого устанавливалось в 95%. Показатели выживаемости были рассчитаны на основании метода регрессионного анализа Каплана–Майера. Сравнение показателей выживаемости оценивалось по логранговому критерию (log-rank).

Все донорские сердца, признанные пригодными для трансплантации, были трансплантированы в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Особенности организации донорства органов в Москве, динамика донорской активности

В Москве, начиная с 2012 года, отмечается стойкая динамика роста эффективных доноров, смерть которых была констатирована на основании неврологических критериев, т. е. диагноза смерти головного мозга (СМ). [Приказ МЗ РФ от 25.12.2014 № 908н]. На рис. 1 представлено абсолютное количество эффективных доноров с диагнозом СМ и в пересчете на млн нас. в год. [mosstat.gks.ru].

Поступательный рост донорской активности стал возможен благодаря целому ряду организационных мероприятий, получивших название «московской модели» донорства органов, среди которых необходимо отметить совершенствование региональной нормативно-правовой базы, внедрение в практическую работу медицинских организаций должности трансплантационного координатора, определение его функциональных обязанностей, формулирование и нормативное закрепление т. н. «триггеров» идентификации возможного донора органов, мониторинг неврологического и соматического статусов возможных и потенциальных доноров и т. д. [Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 19.10.2017 № 737,

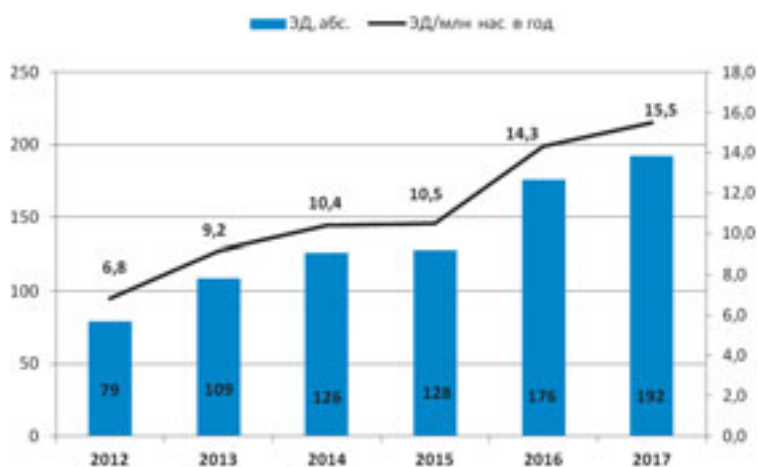


Рис. 1. Динамика донорской активности в городе Москве в 2012–2017 гг.

Минина М.Г., 2016]. Результатом принятых организационных мер стал ежегодный рост количества ЭД на миллион населения в год, достигнув в 2017 г. 15,5, тогда как за аналогичный период общий показатель донорской активности в странах Eurotransplant (Евротрансплант) находился на уровне 13,9 [www.Eurotransplant.org].

Вследствие высокой эффективности использования донорского пула при трансплантации сердца число эффективных доноров сердца на миллион населения в Москве в 2017 г. составило 11,2, что отражено на рис. 2. Аналогичный показатель в Европе в 2017 г. находился на уровне 4,8 [www.Eurotransplant.org].

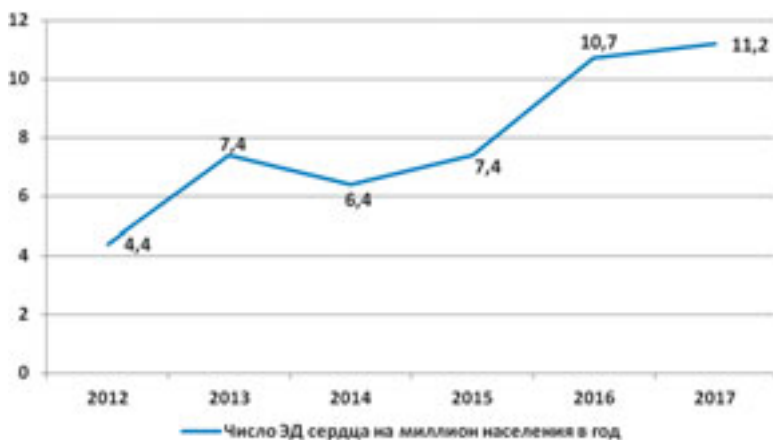


Рис. 2. Число эффективных доноров сердца в Москве на млн нас. в год за период 2012–2017 гг.

Медико-эпидемиологическая характеристика эффективных доноров сердца

Рост интенсивности использования сердца для трансплантации происходил в условиях кардинальных изменений донорских характеристик – повышения возраста доноров, преобладания сосудистых заболеваний в структуре донорской смерти, повышения частоты коморбидных заболеваний – гипертонической болезни (ГБ), сахарного диабета (СД), системного атеросклероза и т. д.

На рис. 3 представлено процентное соотношение основных причин смерти доноров сердца, вошедших в исследование. В 2012 г. преобладали доноры сердца с ЧМТ, составляя 61,8% от общего числа ЭД сердца, vs 38,2%, умерших от ОНМК. В 2015 г. отмечаются сопоставимые значения соотношения доноров, умерших от ЧМТ и ОНМК, и в 2017 г. число доноров, погибших в результате травмы, снижается в 3,7 раза в сравнении с 2012 г., а удельный вес доноров с ОНМК возрастает до 83,2%.



Рис. 3. Процентное соотношение основных причин смерти доноров сердца в Москве в 2012–2017 гг.

По данным регистра International Society for Heart and Lung Transplantation (Международного сообщества по трансплантации сердца и легких), в мире за период 2010–2018 гг. отмечается снижение численности доноров сердца, умерших от ЧМТ, с 48,8 до 40,5%, и увеличение доноров сердца, погибших вследствие аноксического повреждения головного мозга, с 7,7 до 21,5% [ishlt.org].

Возраст ЭД сердца, включенных в исследование, соответствует тенденции старения всего пула доноров. Если в 2012 г. 85,3% от общего числа ЭД сердца составляли доноры до 50 лет, то в 2017 г. их удельный вес составил 50,4% наряду с увеличением количества доноров старшей возрастной группы 51–60 лет до 41,6% vs 14,7% в 2012 г. Впервые в РФ в 2017 г.

доноры сердца, чей возраст находился в диапазоне 61–69 лет, составили 7,1% от общего пула ЭД сердца. Кроме того, в 2017 г. отмечен 1 случай эксплантации сердца от донора возрастной группы 70+. Медиана возраста ЭД сердца за 6 лет увеличилась с 41 до 50 лет (рис. 4). В общемировой практике за аналогичный период также отмечается рост численности доноров старшей возрастной группы, но все же большее число, около 70% от общего числа ЭД сердца, составляют доноры до 40 лет. Медиана возраста ЭД сердца в мире с 2012-го по 2017 г. остается на уровне 32 лет [ishlt.org].

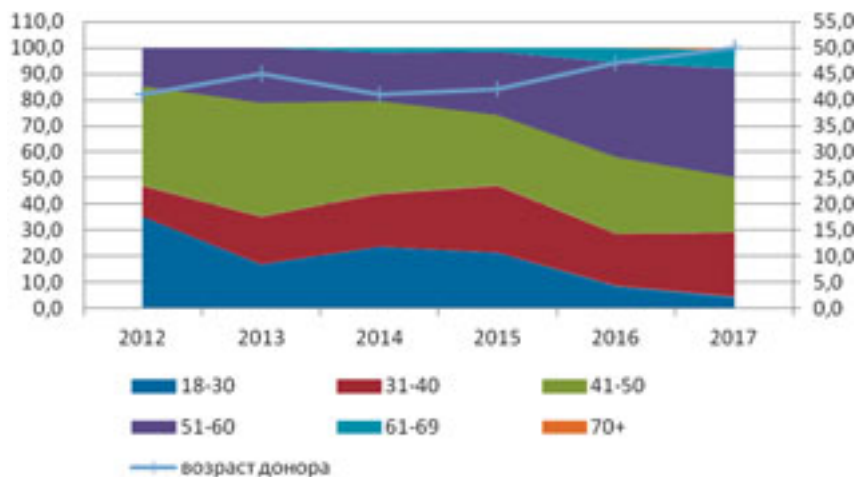


Рис. 4. Динамика удельного веса (%) возрастных групп эффективных доноров сердца; медиана возраста (лет) эффективных доноров сердца в 2012–2017 гг. в городе Москве

Если говорить о гендерном распределении эффективных доноров сердца, то отмечается стойкое преобладание доноров мужского пола. В 2017 г. доноров-мужчин было в 2,9 раза больше, чем доноров-женщин, в долевого соотношении доноры-мужчины составили 75,2%. По данным International Society for Heart and Lung Transplantation (Международного сообщества по трансплантации сердца и легких), в период 2009–2016 гг. число доноров мужского пола в Европе составило 62,4%, в Северной Америке – 70,1%, в других странах – 78,3% [ishlt.org]. Преобладание доноров-мужчин можно рассматривать как положительный фактор, влияющий на выживаемость реципиентов мужского пола, поскольку, по данным Weiss E.S. и соавторов, мужчины, получившие сердце от доноров мужского пола, имели самую высокую кумулятивную выживаемость за 5 лет [Weiss E.S. et al., 2009].

Представленные характеристики доноров сердца в Москве в целом повторяют тенденцию изменений донорского пула в общемировом масштабе, а по ряду характеристик даже превосходят ее, в частности по возрасту эффективных доноров сердца.

Сравнительная характеристика групп доноров с эксплантацией сердца и отказом от эксплантации

Изучены характеристики 650 доноров в период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года. В ходе исследования общий пул доноров был разделен на две группы: группа 1, состоящая из 452 (69,5%) доноров, у которых была выполнена эксплантация сердца, и группа 2, включающая 198 (30,5%) случаев, у которых сердце не использовалось для трансплантации.

Сравнительный анализ характеристик доноров, сердца которых были пересажены (группа 1), и доноров, чьи сердца не использовались для трансплантации (группа 2), выявил статистически достоверные различия по возрасту – доноры из группы 2 старше доноров с эксплантированными сердцами ($p < 0,0001$); причине смерти – доноры из группы 2 чаще умирали вследствие ОНМК ($p < 0,0001$); частоте ГБ ($p < 0,0001$) и СД ($p = 0,007$) – у доноров из группы 2 эти коморбидные заболевания отмечались чаще. Среди показателей, зафиксированных перед эксплантацией органов, отмечена статистически достоверная разница по уровню лактата ($p = 0,055$) – у доноров 2-й группы уровень лактата оказался выше; по показателю ЧСС ($p < 0,0001$) – частота сокращений сердца у доноров 2-й группы даже после коррекции гиповолемии оставалась высокой. В связи с преобладанием во 2-й группе доноров, умерших от ОНМК, уровень САД в данной группе статистически достоверно выше, чем в группе 1 ($p = 0,012$), и потребность в норадреналине больше, чем в группе 1, вероятно, связанная с необходимостью поддержания более высоких значений АД у доноров с ГБ ($p < 0,0001$) (табл. 1).

В табл. 2 представлен сравнительный анализ характеристик доноров, у которых зафиксирован отказ от использования сердца для трансплантации (группа 2). Мы разделили эту группу доноров на две подгруппы в зависимости от причины смерти и сравнили основные характеристики. Выявлено, что среди доноров, сердца которых не использовались для трансплантации, число доноров, умерших вследствие ОНМК, в 2,3 раза больше таковых, умерших от травмы головы. Доноры с ОНМК значительно старше доноров с травматическим повреждением мозга ($p < 0,0001$). Вместе с тем, несмотря на более молодой возраст доноров с травмой, показатели их гомеостаза хуже, чем у доноров с ОНМК. Выявлена статистически достоверная разница по уровню лактата ($p = 0,001$), гемоглобина ($p < 0,0001$) и Na ($p = 0,007$), что можно объяснить более высокой частотой травматического и геморрагического шока у доноров с травмой (табл. 2).

Результаты сравнительного анализа демонстрируют, что количество доноров, сердца которых не использовались для трансплантации, может быть уменьшено путем квалифицированного исполнения процесса кондиционирования доноров с ЧМТ, в частности, обязательной коррекцией тяжелой геморрагической анемии доноров препаратами крови.

Таблица 1

**Сравнительный анализ групп эффективных доноров
с эксплантацией сердца и без эксплантации сердца**

Факторы	Группа 1 ЭД, сердце эксплантировано n = 452	Группа 2 ЭД, сердце не эксплантировано n = 198	P
Возраст, лет, m	45 (18–73)	53 (19–67)	<0,0001
ОНМК/ЧМТ, n (%)	273 (60,4)/179 (39,6)	138 (69,7)/60 (30,3)	0,014
СД, n (%)	39 (8,6)	31 (16,7)	0,007
ГБ, n (%)	230 (50,9)	133 (67,2)	<0,0001
Лактат-2, ммоль/л, m, min–max	1,8 (0,1–12)	2,2 (0,6–15)	0,055
ЧСС-2, уд/мин, m, min–max	90 (58–140)	97 (55–193)	<0,0001
САД-2, мм рт. ст., m, min–max	100 (59–163)	103 (59–153)	0,012
Норадреналин-2, s, нг/кг/мин, min–max	347,9(12–3200)	429,7 (30–1900)	0,012
Без прессорной поддержки-2, n (%)	78 (17,6)	47 (23,7)	0,033

Примечание. m – медиана; s – среднее значение; 1 – показатели, полученные на момент первичного осмотра донора; 2 – показатели, полученные перед эксплантацией.

Таблица 2

**Сравнительный анализ показателей доноров
из группы 2 в зависимости от причины смерти**

Фактор	ЧМТ (n = 60)		ОНМК (n = 138)		P
	Среднее значение	Min–Max	Среднее значение	Min–Max	
Возраст, лет	46,4 (n = 60)	19–64	52,5 (n = 138)	27–67	<0,0001
pH, ед. pH	7,38 (n = 49)	6,97–7,60	7,39 (n = 129)	6,90–7,62	0,47
Лактат, ммоль/л	4,72 (n = 34)	0,7–22	2,74 (n = 94)	0,2–9,2	0,001
Na, ммоль/л	149,7 (n = 49)	123–178	144,8 (n = 130)	131–183	0,007
Hb, г/л	102,9 (n = 48)	56–156	136,5 (n = 128)	48–186	<0,0001
Глюкоза, ммоль/л	11,5 (n = 48)	6,0–31,0	10,3 (n = 127)	3,0–22,8	0,082
Креатинин, мкмоль/л	99,9 (n = 60)	47,0–239,0	103,0 (n = 136)	37,0–549,0	0,676
Норадреналин, нг/кг/мин	560,4 (n = 60)	0,0–2000	442,9 (n = 134)	0,0–2500	0,125

Анализ влияния факторов донора на отказ от использования сердца для трансплантации

С учетом данных, представленных выше, для детального анализа был отобран ряд донорских факторов с целью определения их влияния на отказ от донорского сердца: возраст, причина смерти, пол; наличие в анамнезе ГБ, СД, САД, pH артериальной крови, лактат, Na, глюкоза крови, доза вазопрессорной поддержки.

Математическим способом был рассчитан удельный вес отказов (%) в зависимости от присутствия/отсутствия донорского фактора. В процессе анализа выявлена прямая зависимость между возрастом донора и частотой отказов от донорского сердца. В возрастной группе «41–50» лет доля отказов составила 27,5, в группе «51–60» – 41,4, а в группе возрастных доноров «60+» увеличилась до 57,9%. Расширение критериев селекции доноров сердца способствовало снижению частоты отказов от доноров, умерших в результате ОНМК, что сделало сопоставимой разницу по отказам от доноров, умерших от ЧМТ, 33,6 vs 25,1 соответственно. Показатель САД существенно не влиял на процент отказов от донорского сердца, тогда как рост лактата крови был сопряжен с увеличением числа отказов от донорского сердца. У доноров с лактатом крови в диапазоне 6–13 ммоль/л (выше нормы в 3–6 раз) отказ от сердца составлял 37,5%. Не выявлено существенной разницы в частоте отказов в зависимости от показателя pH. Удельный вес отказов при низких значениях pH незначительно выше (32,3%) такового при нормализации показателя (28,9%). Не выявлено существенной разницы в количестве отказов в зависимости от значения Na крови, как при нормальных, так и при повышенных его значениях, удельный вес отказов в среднем составлял 28,7%. СД у доноров вызывал отказ от использования сердца в 44,3% случаев, тогда как изолированное повышение уровня глюкозы-1 крови более 10,9 ммоль/л без диагноза СД негативно влияло на принятие решение о трансплантации сердца в 32,6%. С ростом потребности в вазопрессорной поддержке наблюдали увеличение случаев отказа, при минимальных значениях до 100 нг/кг/мин отказывались от доноров в 20,6% случаях, при увеличении скорости введения до 800 нг/кг/мин доля отказов составила 35,2%.

Модель оценки донорского сердца, прогнозирующая его использование для трансплантации

Как было показано в настоящем исследовании, рост числа трансплантаций сердца обусловлен, в числе прочих факторов, значительным увеличением частоты использования доноров с расширенными критериями (ДРК). ДРК могут иметь множество факторов риска, ввиду чего требуется их комплексная оценка для принятия взвешенного решения о трансплантации донорского сердца. Представляется обоснованным из множества

донорских факторов выбрать те, влияние которых на отказ от использования сердца статистически достоверно, и включить выявленные факторы в модель оценки донорского сердца, построенную с использованием метода бинарной логистической регрессии, при этом для оценки степени влияния каждого из факторов использовать значение ОШ.

В логистическую регрессию были включены факторы – возраст, пол, причина смерти, анамнез ГБ и(или) СД, факт остановки кровообращения, прижизненная патология сердца и(или) острые травматические повреждения сердца; показатели, определяющие состояние гомеостаза донора – САД, ЧСС, гемоглобин, рН, лактат, Na, глюкоза, доза норадреналина, мочевины крови, креатинин крови учитывались в двух значениях, при первичном осмотре донора и перед эксплантацией органов. В ходе анализа выявлены восемь донорских факторов, показавших статистически достоверное влияние, и два фактора, стремящихся к достоверности, лактат – 2 ($p = 0,060$) и потребность в норадреналине – 2 ($0,061$), которые мы посчитали возможным включить в итоговую модель оценки сердца (табл. 3). Необходимо отметить, что в ходе сравнительного анализа групп доноров (табл. 1) большинство из факторов, включенных в модель, продемонстрировали статистически значимую разницу в значении показателей. Факторы, не оказавшие значимого влияния на решение об отказе, исключены из дальнейшего анализа – пол, САД-1, ЧСС-1, гемоглобин-1, гемоглобин-2, рН-1, рН-2, лактат-1, Na-1, Na-2, глюкоза-1, глюкоза-2, креатинин крови – 1, креатинин крови – 2, мочевины крови – 1, мочевины крови – 2, потребность в норадреналине – 1.

Риск отказа от сердца, сопряженный с каждым из донорских факторов, вошедшим в итоговую модель, представлен в табл. 3. Количественно степень риска выражена в баллах, получаемых при округлении значения отношения шансов (ОШ). Окончательный риск отказа от донорского сердца образуется путем суммирования баллов каждого из факторов.

Таблица 3

**Балльная оценка риска отказа от донорского сердца
(логистическая регрессия, зависимая переменная –
факт отказа от донорского сердца, число доноров 650,
период с 1 января 2012 года по 31 декабря 2017 года)**

Факторы	Отношение шансов	Доверительный интервал	Баллы*	P
Возраст				
<45	0,35	0,237–0,504	1	<0,0001
45–54	1,22	0,86–1,74	1	
55–59	1,85	1,24–2,77	2	
>60	2,81	0,86–1,74	3	

Окончание табл. 3

Факторы	Отношение шансов	Доверительный интервал	Баллы*	P
Причина смерти ОНМК ЧМТ	1,51 0,66	1,06–2,16 0,46–0,95	2 1	0,024
ГБ Да Нет	1,96 0,506	1,39–2,8 0,36–0,72	2 1	0,001
СД Да Нет	1,97 0,51	1,19–3,26 0,31–0,843	2 1	0,009
Остановка кровообращения** Да Нет	23,99 0,042	3,05–188,72 0,005–0,33	24 1	<0,0001
Патология и травматические повреждения сердца*** Да Нет	14,61 0,68	6,39–33,43 0,30–0,157	15 1	<0,0001
ЧСС-2, уд/мин <60 60–90 >90	7,45 0,51 1,83	0,77–72,1 0,36–0,74 1,27–2,63	7 1 2	<0,0001
САД-2, мм рт. ст. <70 70–110 110–150 >150	0,57 0,63 1,42 3,03	0,06–5,12 0,44–0,91 0,97–2,10 1,11–8,25	1 1 1 3	<0,0001
Лактат-2, ммоль/л <2 >2	0,58 1,72	0,37–0,89 1,13–2,64	1 2	0,060
Норадреналин-2, нг/кг/мин <100 100–600 600–1000 >1000	1,23 0,785 0,813 2,615	0,85–1,77 0,56–1,10 0,45–1,46 1,09–6,26	1 1 1 3	0,061

Примечание. 2 – показатели, полученные перед эксплантацией; * максимум – 63 балла, минимум – 10 баллов, донор низкого риска ≤ 17 баллов, донор высокого риска ≥ 18 баллов; ** остановка кровообращения на догоспитальном или госпитальном этапах; *** ИБС, нарушения ритма, патология и протезирование клапанов, травматические повреждения сердца.

Верификация балльной модели селекции

Для верификации полученной модели использован пул ЭД со смертью мозга с 1 января по 31 декабря 2019 года, включающий 250 доноров. Каждому донору дана балльная оценка в соответствии с разработанной моделью. Исходя из среднего значения оценки доноров, составившей 18 баллов, все доноры были классифицированы как доноры низкого (ДНР ≤ 17) и высокого рисков (ДВР ≥ 18) с позиции риска отказа от использования сердца для трансплантации. Например, риск отказа от донора сердца в возрасте 56 лет в 1,85 раза выше, чем от донора 46 лет, у которого риск по фактору «возраст» принят за базовый и составляет 1 балл (табл. 3).

В соответствии с данными, представленными на рис. 5, отмечается значительный рост отказов от донорского сердца при итоговой оценке донора в 18 баллов и более. Удельный вес отказов для ДНР составил 5,4%, для ДВР – 82,1%, разница статистически достоверна ($p < 0,0001$), χ^2 Пирсона равен 152,9.

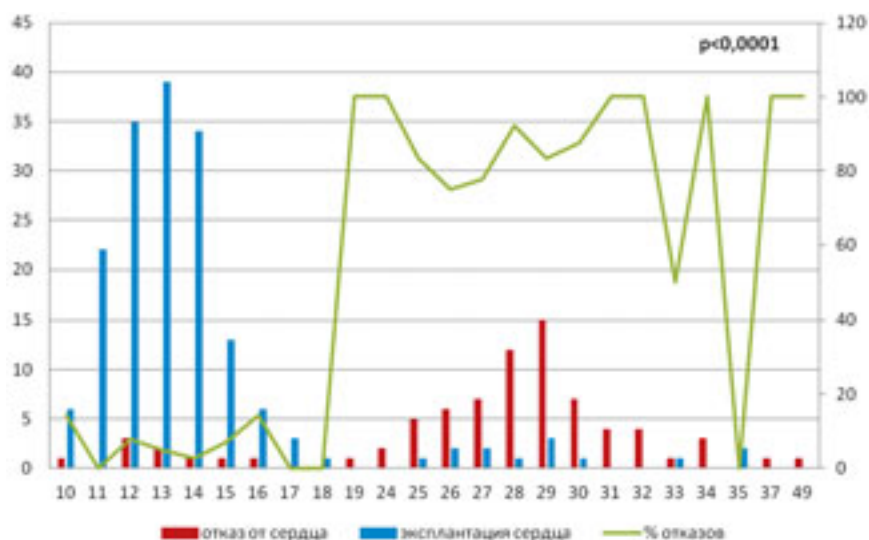


Рис. 5. Оценка риска отказа от доноров сердца в баллах и фактические отказы от сердца (%) (валидационный пул доноров)

Оценка чувствительности и специфичности модели на основе ROC-анализа

Для оценки прогностической функции модели использовали ROC-кривую (рис. 6), показавшую, что способность модели определять доноров, имеющих высокий риск отказа от сердца, т. е. чувствительность, составила 88,5%, а специфичность – 91,9%. Оптимальный порог отсечения, разделяющий ДНР и ДВР, соответствует уровню 17,5 балла. По данным ROC-

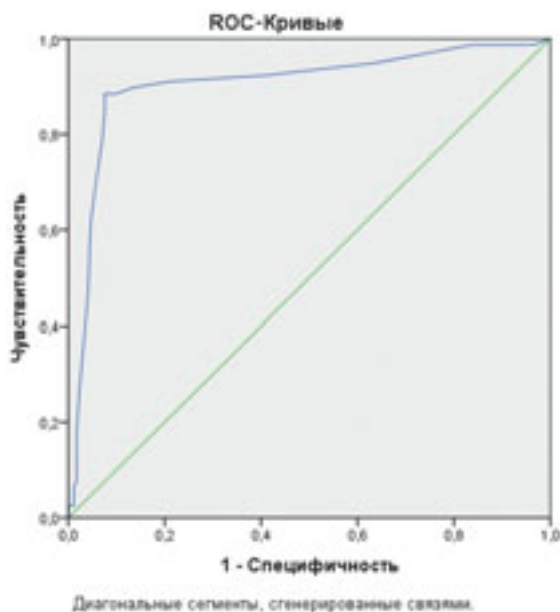


Рис. 6. ROC-кривая

кривой, AUC (площадь под кривой) имеет высокое значение – 0,904, что дополнительно указывает на высокое качество модели [Григорьев С.Г. и соавт., 2016]. Представленная модель оценки донорского сердца обладает хорошими прогностическими качествами, проста в использовании и может быть рекомендована для работы специалистам донорских служб и медицинских организаций, оказывающих трансплантологическую помощь.

Анализ выживаемости реципиентов трансплантированного сердца

Выполнен анализ выживаемости реципиентов после трансплантации сердца от доноров, вошедших в валидационный пул в период с 1 января 2019 г. по 31 декабря 2019 г. Оценивалась выживаемость только взрослых реципиентов, которым впервые была выполнена трансплантация сердца. Число таких реципиентов составило 145. Реципиенты после повторной трансплантации сердца, а также реципиенты моложе 18 лет были исключены из анализа выживаемости. Нежелательным событием, которое оценивалось в анализе выживаемости, являлась смерть реципиента вне зависимости от причины ее наступления.

В течение всего периода наблюдения (среднее значение – 323,9 дня) смерть наступила у 19 реципиентов, из них 7 реципиентов умерло в течение 30 дней после ТС. Число реципиентов сердца, получивших сердце от доноров низкого риска, составило 131, при этом 18 из них умерли (13,7%).

Значительно меньшее число реципиентов получили сердце от доноров высокого риска, 14 реципиентов, зарегистрирован 1 летальный исход (7,1%).

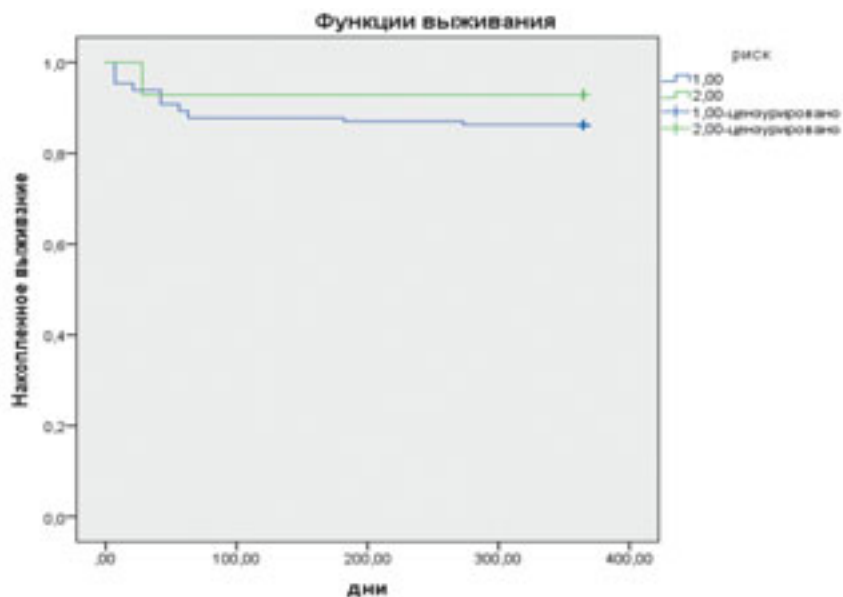
30-дневная выживаемость реципиентов с донорскими сердцами высокого и низкого рисков удовлетворительная и составляет 92,9 и 95,4% соответственно (рис. 7). Важно отметить, что данные по выживаемости сопоставимы между группами реципиентов, и вполне логично, что выживаемость реципиентов с трансплантированными сердцами низкого риска несколько выше, но статистической значимости данная разница не имеет.



Рис. 7. 30-дневная выживаемость групп реципиентов, получивших сердца от доноров высокого и низкого риска, согласно балльной модели оценки

Вместе с тем 1-летняя выживаемость реципиентов, получивших сердца от доноров низкого риска, составила 86,3%, что оказалось ниже показателя выживаемости реципиентов после трансплантации сердца от доноров высокого риска, составившей 92,3%. Сравнение логранговым методом кривых выживаемости указанных групп реципиентов не выявило статистически достоверных различий (рис. 8). Расцениваем полученные результаты по выживаемости между группами реципиентов как сопоставимые, свидетельствующие о приемлемости использования доноров с расширенными критериями и удовлетворительных качествах разработанной модели для оценки доноров сердца.

С учетом потенциально негативного воздействия на результаты трансплантации сердца повышения возраста доноров и нетравматической причины их смерти было выполнено исследование влияния указанных факторов на 30-дневную и 1-летнюю выживаемость реципиентов. Выявлено снижение 1-летней выживаемости среди реципиентов, получивших серд-



Сводный отчет по наблюдениям

Донорский риск	Всего	N событий	Редактировано	
			N	Проценты
1,00-ДНР	131	18	113	86,3%
2,00-ДВР	14	1	13	92,9%
Все	145	19	126	86,9%

Общие сравнения

	Хи-квадрат	ст.св.	Значимость
Log Rank (Mantel-Cox)	,454	1	0,500

Рис. 8. Кумулятивная пропорциональная выживаемость реципиентов, получивших сердца от доноров высокого и низкого рисков

ца от доноров старших возрастных групп, 45–54 лет (81,8%), 55–59 лет (85,7%), старше 60 лет (88,9%) относительно доноров моложе 45 лет, при этом обнаруженная разница статистически недостоверна. Отмечается снижение 1-летней выживаемости реципиентов, получивших сердца от доноров, умерших вследствие ОНМК, до 85,6% в сравнении с реципиентами, чьи доноры умерли от ЧМТ, 91,2%, статистически достоверной разницы при этом не выявлено.

Заключение

Достаточно высокая точность, с которой математические модели способны оценить степень влияния исследуемых факторов на наступление или ненаступление того или иного события, делает их практически незаменимыми в медицине [Khush K.K et al., 2012]. Опыт разработки собственной модели оценки доноров сердца, представленной в данном исследовании,

показал, насколько сложно, а зачастую просто невозможно дать точную оценку таким факторам донора, как возраст, пол, коморбидность и т. д. при формировании решения об использовании донорского сердца для трансплантации. Разработанная модель оценки значительно расширит возможности текущей практики селекции доноров сердца, базирующейся преимущественно на результатах инструментальной оценки. В условиях дефицита донорских органов для трансплантации повышение эффективности имеющегося донорского потенциала чрезвычайно актуально. Первый опыт использования разработанной модели показал ее способность увеличить эффективность использования доноров сердца на 10,8% в год за счет более точной классификации доноров, основанной на степени риска отказа от использования сердца для трансплантации. Представленная модель балльной оценки доноров сердца вносит существенный вклад в уже работающий комплекс организационных и медицинских мер, включая совершенствование организации донорства органов для трансплантации в Москве и расширение критериев селекции доноров сердца, направленных на повышение доступности для пациентов медицинской помощи методом трансплантации органов.

Выводы

1. Увеличение числа трансплантаций сердца в Москве в 2012–2017 гг. в 3,3 раза связано с ростом донорской активности и пересмотром стандартных критериев селекции доноров сердца, выразившемся в повышении среднего возраста эффективных доноров сердца до 47,0 года, использовании для трансплантации доноров, умерших в результате нетравматической патологии, имеющих коморбидность.
2. Доноры, сердца которых не использовались для трансплантации, в сравнении с эффективными донорами сердца имели более высокие показатели возраста, коморбидности, сосудистых причин смерти, частоты нарушений гомеостаза и гемодинамики перед эксплантацией органов. Доноры с отказом от трансплантации сердца, умершие вследствие травматических повреждений, имели достоверно более высокие показатели лактата, натрия крови и снижения уровня гемоглобина относительно доноров, умерших вследствие сосудистых повреждений мозга, что указывает на потенциальную возможность снижения частоты отказов от сердца у доноров с травмой путем улучшения коррекции показателей их гомеостаза.
3. Достоверными факторами доноров, повлиявшими на отказ от трансплантации сердца, явились возраст, причина смерти, коморбидность, остановка кровообращения, прижизненная патология или острая травма сердца, уровень лактата крови, показатели ЧСС, САД, доза норадреналина.

4. Разработана система балльной оценки доноров сердца на основе достоверных донорских факторов, позволившая классифицировать доноров сердца как доноров высокого (≥ 18 баллов) и низкого риска (≤ 17 баллов) с позиции отказа от использования сердца для трансплантации. В валидационном пуле доноров сердца выявлена статистически достоверная разница в количестве отказов от трансплантации сердца между донорами высокого и низкого рисков.
5. Разработанная модель позволяет прогнозировать риск отказа от использования сердца для трансплантации с уровнем чувствительности в 88,5% и возможность использования донорского сердца для трансплантации с уровнем специфичности в 91,9%.
6. Наилучшие показатели госпитальной выживаемости, составившие 94,5%, 98,2%, 100%, выявлены у реципиентов сердца от доноров низкого риска, доноров моложе 45 лет и доноров, умерших от травмы соответственно.

Практические рекомендации

1. Совершенствование организационных подходов к донорству органов для трансплантации увеличивает число возможных доноров сердца, а расширение критериев донорства сердца повышает эффективность использования донорского пула в регионе.
2. Возраст донора, наличие коморбидности, неудовлетворительные показатели гомеостаза не являются абсолютными противопоказаниями к первичной оценке возможного донора сердца.
3. Частота нарушений гомеостаза и гемодинамики выше у доноров, умерших вследствие травмы, что требует более тщательного кондиционирования доноров, в том числе с использованием препаратов нативной крови и плазмы.
4. Рекомендовано применение разработанной модели оценки сердца на начальном этапе селекции донора с последующей инструментальной диагностикой.
5. Сведения о донорах высокого риска, согласно оценке представленной модели, в первую очередь необходимо направлять в центры трансплантации, имеющие программы и опыт по работе с субоптимальными донорами.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Тенчурина Э.А.** Организационные и медико-эпидемиологические предпосылки пересмотра донорских критериев при трансплантации сердца / **Э.А. Тенчурина**, М.Г. Минина [Журнал] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 43–52.

2. **Тенчурина Э.А.** Современные представления о критериях селекции доноров сердца / **Э.А. Тенчурина**, М.Г. Минина // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 174–181.
3. **Тенчурина Э.А.** Модель оценки донорского сердца, прогнозирующая его использование для трансплантации / **Э.А. Тенчурина**, М.Г. Минина [Журнал] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 27–31.
4. Минина М.Г. Современные представления о критериях селекции доноров сердца / М.Г. Минина, **Э.А. Тенчурина** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – Приложение. – С. 48.
5. **Tenchurina E.A.** Donor Heart Assessment / **Tenchurina E.A.**, Minina M.G. // Significances Bioeng. Biosci. – 2020. – Т. 4-1. – S. 339–344.

Список использованных сокращений

АД	– артериальное давление
ГБ	– гипертоническая болезнь
ДВР	– доноры высокого риска
ДНР	– доноры низкого риска
ДРК	– доноры с расширенными критериями
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
КР	– коэффициент риска
МГКЦОД	– Московский городской координационный центр органного донорства
НА	– норадреналин
НМИЦ ТИО	– Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
ОШ	– отношения шансов
ПНТ	– первичная недостаточность трансплантата
РФ	– Российская Федерация
САД	– среднее артериальное давление
СД	– сахарный диабет
СМ	– смерть мозга
США	– Соединенные Штаты Америки
ТС	– трансплантация сердца
ЧМТ	– черепно-мозговая травма
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЭД	– эффективные доноры
AUC	– площадь под кривой ошибок
ROC-кривая	– кривая ошибок

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ

Шигаев Е.Ф., Готье С.В.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время трансплантация легких является основным методом радикального лечения терминальной дыхательной недостаточности как исхода легочных заболеваний, позволяющим увеличить выживаемость и качество жизни данной группы пациентов. Одним из важных факторов улучшения результатов трансплантации легких является своевременное реагирование на события посттрансплантационного периода в виде различных послеоперационных осложнений, как в ранние, так и в отдаленные сроки после операции [Weill D., 2015].

Трансплантация легких является весьма травматичной и продолжительной хирургической операцией, часто связанной с образованием обширных раневых поверхностей в плевральных полостях, что создает предпосылки к развитию осложнений как в процессе самой операции, так и в раннем послеоперационном периоде [Готье С.В., 2019].

При регулярном амбулаторном наблюдении реципиентов легочных трансплантатов крайне важно понимать все факторы, влияющие на функцию трансплантата, и как следствие, качество и продолжительность жизни. Наиболее важными из них являются: наличие постоянного контакта трансплантированного органа с внешней средой, высокие риски развития респираторных инфекций, осложнения раннего послеоперационного периода и осложнения, связанные с длительным приемом иммуносупрессивных препаратов [Jin Z., 2020].

При оценке отдаленных результатов необходимо учитывать и дооперационный анамнез пациентов: наличие хронического инфицирования полирезистентной флорой, явления хронической почечной или печеноч-

ной недостаточности, сахарного диабета и других клинически значимых состояний [Chambers D., 2018].

Разнообразие вариантов течения послеоперационного периода, связанное с исходным заболеванием, коморбидностью, возрастом больного и событиями раннего послеоперационного периода обуславливает необходимость систематизации подходов и формирование единого протокола наблюдения реципиентов донорских легких в отдаленном периоде.

Опыт трансплантации легких в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова) насчитывает уже более 6 лет. За этот период произведено более 80 трансплантаций легких и сердечно-легочного комплекса. Оценка накопленного опыта может послужить основой для формирования нового алгоритма лечения реципиентов донорских легких на различных этапах посттрансплантационного периода, направленного на улучшение показателей выживаемости и качества жизни.

Цель исследования

Оценка влияния различных событий послеоперационного периода на отдаленные результаты трансплантации легких.

Задачи исследования

1. Изучить особенности течения отдаленного послеоперационного периода у реципиентов легких.
2. Проанализировать факторы, влияющие на развитие осложнений в отдаленном посттрансплантационном периоде у реципиентов легких.
3. Изучить характер и частоту отдаленных посттрансплантационных осложнений в зависимости от этиологии первичного заболевания.
4. Усовершенствовать алгоритмы коррекции и профилактики осложнений, ассоциированных с длительным приемом иммуносупрессивной терапии, после трансплантации легких.
5. Сформировать протокол наблюдения реципиентов легких в послеоперационном периоде.

Научная новизна

Впервые систематизирован опыт и результаты ведения отдаленного послеоперационного периода у реципиентов после трансплантации легких на территории Российской Федерации. Проведен анализ осложнений у реципиентов легких в отдаленном периоде, определены подходы к их

коррекции и профилактике. Дана оценка влиянию дооперационных осложнений и осложнений раннего послеоперационного периода у реципиентов легких на выживаемость в отдаленном периоде. Определена причинно-следственная связь событий послеоперационного периода с отдаленными результатами трансплантации легких. На основании многофакторного анализа сформулирован прогностический алгоритм ведения пациентов после трансплантации легких.

Практическая значимость исследования

Внедрение научной разработки в клиническую практику позволит:

- 1) ограничить риск развития осложнений у реципиентов донорских легких в отдаленные сроки после трансплантации легких;
- 2) сформулировать подходы к профилактике и коррекции нежелательных явлений иммуносупрессивной терапии и адъювантной терапии;
- 3) оптимизировать процесс амбулаторного наблюдения пациентов после трансплантации легких;
- 4) увеличить продолжительность и качество жизни после трансплантации легких без нежелательных событий.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Все факторы, влияющие на результаты трансплантации легких, можно разделить на три временных промежутка: связанные с дотрансплантационным анамнезом, факторы раннего и отдаленного послеоперационного периода.
2. Основное заболевание реципиента, по поводу которого выполнена трансплантация, и его осложнения оказывают существенное влияние на результаты трансплантации легких.
3. С целью снижения риска развития осложнений в отдаленном периоде необходимо использование стандартизированного протокола наблюдения реципиентов, который включает комплексное лабораторное, инструментальное и клиническое динамическое обследование на всем периоде наблюдения.
4. При выявлении клинически значимой почечной недостаточности в посттрансплантационном периоде необходимо проведение коррекции иммуносупрессивной терапии в сторону уменьшения ее нефротоксичности.

Методология и методы исследования

Включение реципиентов в лист ожидания осуществлялось в соответствии с рекомендациями Международного общества трансплантации сердца и легких (ISHLT – от англ. International Society for Heart and Lung Trans-

plantation) и Российского трансплантологического общества. Клиническая характеристика реципиентов легких в посттрансплантационном периоде проводилась посредством лабораторных и инструментальных методов исследования, таких как общий анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, кислотно-щелочные и газовые показатели венозной и артериальной крови, спирометрия, компьютерная томография, бронхоскопия, на основании критериев, изложенных в рекомендациях International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). Также проводилась статистическая обработка полученных данных.

Степень достоверности

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечена достаточным объемом клинических исследований (66 пациентов после трансплантации легких) с использованием клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования, анализа, современных методов статистической обработки данных.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в клиническую практику хирургического отделения № 3 Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в учебно-методическую работу на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Работы, опубликованные по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 5 статей в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Характеристика реципиентов легочных трансплантатов

Диссертационное исследование носит ретроспективный характер и основывается на анализе отдаленных результатов трансплантации легких, выполненных в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» в период с сентября 2014 года по июнь 2021 года.

Критерием для включения в исследование принят порог выживаемости после трансплантации не менее 3 месяцев. Данному критерию соответствовали 66 реципиентов донорских легких, 3 из которых перенесли трансплантацию легких в составе сердечно-легочного комплекса. Наименьший срок наблюдения составил 106 дней, наибольший – 2488 дней (6 лет 10 месяцев).

Изученная группа реципиентов представлена преимущественно пациентами мужского пола ($n = 39$; 59%), количество пациентов женского пола – 27 (41%). Средний возраст пациентов составил $33,4 \pm 13$ лет, из них 5 пациентов детского возраста: трое мальчиков 10, 13 и 17 лет, и 2 девочки 13 и 14 лет.

Всего в группе исследования трансплантация легких была выполнена по поводу 11 нозологий, из которых наибольшее количество выполнено по поводу муковисцидоза (41%), ХОБЛ (18%) и первичной легочной гипертензии (11%).

Средние показатели роста составили $168,2 \pm 10,6$ см, веса – $52,3 \pm 11,4$ кг. На основании антропометрических данных на момент операции был рассчитан индекс массы тела реципиентов, который в исследуемой группе составил $19,2 \pm 3,0$ кг/см².

У всех реципиентов был рассчитан показатель общей емкости легких (ОЕЛ) – Total lung capacity (TLC) с целью подбора соответствующего донорского органа. В связи с выраженной дыхательной недостаточностью у ряда пациентов проведение оценки TLC по данным спирометрии не представлялось возможным, в связи с чем расчеты производились по стандартизированной формуле: для мужчин $7,99 \times h - 7,08$; для женщин $6,6 \times h - 5,79$, где h – рост пациента (см) [Kilburn K. H., 1992].

Одним из основных показателей, изучаемых при оценке тяжести потенциальных реципиентов, является фактор распределения легких (Lung allocation score – LAS). Данный показатель характеризует совокупную тяжесть состояния пациента и позволяет оценить императивность и приоритетность трансплантации легких для каждого конкретного случая исходя из анализа индивидуальных факторов, связанных с дотрансплантационным периодом (возраст, ИМТ, основное заболевание, тяжесть дыхательной, сердечно-сосудистой и почечной недостаточности) [Gries C.J., 2007]. В изученной популяции средний показатель LAS составил $36,5 (\pm 7)$.

В подавляющем большинстве наблюдений была выполнена двусторонняя последовательная трансплантация легких – 55 случаев (83%). При одной из двусторонних трансплантаций легких выполнена симультанная трансплантация печени и спленэктомия. Также было выполнено 6 однологочных трансплантаций (9%), из которых 4 левосторонние и 2 правосторонние. Выбор объема трансплантации был продиктован особенностями этиологии заболевания и течения основного заболевания, а также актуальным статусом пациента. Все реципиенты однологочной трансплантации были старшей возрастной группы (>50 лет), по данным лабораторных исследований, отсутствовали признаки хронической инфекции, все реципиенты имели как минимум одно сопутствующее заболевание, связанное с другими органами или системами, что могло усугубить течение раннего послеоперационного периода (сахарный диабет, гипертоническая болезнь и др.). В связи с развитием выраженной сердечно-легочной недостаточности по застойному типу, гемодинамически значимой дилатацией правых отделов сердца 3 реципиентам выполнена трансплантация комплекса «сердце–легкие» (4%). Одному ребенку в связи с несоответствием объема грудной клетки объему донорских легких выполнена билобарная трансплантация легких от взрослого посмертного донора.

Отбор реципиентов в лист ожидания осуществлялся по результатам комплексного всестороннего обследования, включавшего в себя оценку следующих показателей:

- функция внешнего дыхания и степень снижения толерантности к физической нагрузке;
- наличие сопутствующих осложнений: сахарный диабет, печеночная, почечная, сердечно-сосудистая недостаточность и др.;
- наличие хронического или острого инфекционного процесса;
- анамнез хирургических операций на грудной клетке.

Методы обследования реципиентов легких в послеоперационном периоде

Обследование проводилось с учетом диагноза основного заболевания, согласно протоколам международных и национальных клинических рекомендаций по трансплантации легких и сердечно-легочного комплекса [Weill D., 2015].

Все осложнения раннего послеоперационного периода разделены на следующие группы:

1. Осложнения, связанные с использованием ЭКМО (формирование артериовенозной фистулы, тромбоз сосудов нижних конечностей).
2. Осложнения, непосредственно связанные с проведением операции на органах грудной клетки (пневмо-, гидро- или гемоторакс, парез

диафрагмы, развитие инфекционных осложнений со стороны послеоперационной раны).

3. Состояния, связанные с первичной дисфункцией трансплантированных легких (трахеостомия, пролонгированное ИВЛ, острое отторжение трансплантированных легких).
4. Осложнения со стороны других органов и систем.

В рамках комплексного наблюдения в отдаленном периоде оценивались следующие показатели:

1. Функция трансплантированных легких (для реципиентов сердечно-легочного трансплантата также проводилась оценка функции сердца).
2. Частота развития острого и хронического отторжения трансплантированных легких.
3. Частота неинфекционных осложнений и их влияние на качество жизни в отдаленном периоде после трансплантации.
4. Частота инфекционных осложнений и наличие хронической инфекции дыхательных путей.

В качестве базового инструментального метода исследования оценки функции легочного трансплантата использовалась спирометрия. Оценка функции дыхания производилась на аппарате MIR Spirolab III (Италия). Основными параметрами оценки функции трансплантата по спирометрии приняты следующие показатели: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), модифицированный индекс Тиффно (мИТ), пиковая скорость выдоха (ПСВ). В качестве эталонного показателя для дальнейшей оценки функции дыхания принималось среднее значение за три измерения с максимальными показателями в течение года. При снижении последующих показателей более чем на 10% состояние трактовалось как дисфункция легочного трансплантата.

Помимо оценки функции внешнего дыхания производилось скрининговое обследование на предмет интерстициальной патологии легочной ткани. С данной целью не менее 1 раза в год проводилась компьютерная томография органов грудной клетки на аппарате Siemens Somatom Sensation (64-slice) (Siemens, Германия).

При подозрении на наличие бронхиальной патологии производилась диагностическая бронхоскопия с использованием эндоскопической стойки Evis Exera II Olympus CV-180. В случае прогрессирования дыхательной недостаточности и исключения других потенциальных причин возникновения дисфункции трансплантированных легких выполнялась щипковая трансбронхиальная биопсия, а с 2020 года – трансбронхиальная криобиопсия с целью исключения отторжения трансплантата.

Всем пациентам проводилась трехкомпонентная иммуносупрессивная терапия, в состав которой входили глюкокортикостероиды (Метилпреднизолон), ингибиторы кальциневрина (Такролимус или Циклоспорин) и

препараты микофеноловой кислоты (Микофенолата Мофетил (ММФ) или Микофеноловая кислота (МК)). В качестве индукционной иммуносупрессии использовался Метилпреднизолон в дозировке 5 мг/кг внутривенно на реперфузию каждого трансплантата или 10 мг/кг в случае трансплантации комплекса «сердце–легкие» и Базиликсимаб из расчета 20 мг внутривенно в начале операции. На 4-е сутки проводилась повторная инфузия Базиликсимаба в той же дозировке. Дозировка инфузионного Метилпреднизолонa постепенно снижалась вплоть до 1 мг на 1 кг веса пациента, с последующим переводом на пероральный прием препарата в эквивалентной дозировке 1 мг на 10 кг. Решение о начале приема Такролимуса и препаратов Микофеноловой кислоты производилось после оценки событий раннего послеоперационного периода.

Подбор дозировки Такролимуса производился исходя из параметров целевой концентрации. Для первого года после трансплантации легких целевой уровень составлял 10–12 мг/мл. В более позднем периоде, ввиду риска развития осложнений, связанных с приемом иммуносупрессивной терапии, допустимым считался уровень концентрации Такролимуса в 8–10 мг/мл. При трехкомпонентной терапии, в составе которой присутствовали Метилпреднизолон, Такролимус и Эверолимус, титрование дозировки последних двух препаратов осуществлялось из расчета суммы сывороточных концентраций обоих препаратов в диапазоне 10–12 нг/мл.

Оценка концентрации Циклоспорина проводилась по стандартной методике с измерением концентрации перед приемом (C0) и через 2 часа после приема препарата (C2), а также площади под кривой «концентрация–время» (AUC – Area Under Curve).

Расчет скорости клубочковой фильтрации производился по стандартизированной формуле СКД-EPI: $СКФ(мл/мин/1,73м^2) = 141 \times (Креатинин_{min} или 1)^x \times (Креатинин_{max} или 1)^y \times 0,993^Z (\times 1,018 \text{ (для женщин)})$, где $x = 0,7$ для женщин и $0,9$ для мужчин, $y = -0,329$ для женщин, $-0,411$ для мужчин, Z – возраст пациента (Osho A.A., 2015).

Методы статистической обработки данных

Для обработки полученных данных использовали стандартные для медико-биологических исследований методы статистического анализа. Группировку данных и математические расчеты производили в компьютерной программе электронных таблиц Microsoft® Excel® 2013 (Microsoft, США) для Windows. Для статистической оценки значимости различий сравниваемых групп и построения графиков использовалась программа статистики IBM SPSS Statistics, версия 28.0.0.0 (IBM, США). Статистически достоверными различия считались при $p < 0,05$. Значимость корреляции оценивалась исходя из используемого метода анализа, так, при расчете по методу Пирсона брались показатели $t > 0,250$. Непосредственный выбор методов

оценки продиктован типом исходных данных. Основная часть показателей не удовлетворяет закону нормального распределения Гаусса, для оценки корреляции которых использовался метод V Крамера. Для определения корреляции количественных показателей использовался метод Пирсона для малых выборок. Оценка выживаемости и развития нежелательных явлений в отдаленном периоде проводилась с использованием процедуры Каплана–Майера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всю совокупность факторов риска развития осложнений посттрансплантационного периода можно разделить на соответствующие группы:

1. Факторы, ассоциированные с дотрансплантационным анамнезом: основное заболевание, приведшее к трансплантации легких, а также все сопутствующие состояния и заболевания, возникшие у реципиентов до трансплантации легких и способные повлиять на ранний и отдаленный послеоперационный период.
2. Факторы, ассоциированные с ранним послеоперационным периодом: осложнения и состояния, связанные непосредственно с ходом оперативного вмешательства, анестезиологическим пособием и реабилитационным периодом после трансплантации легких.
3. Факторы, ассоциированные с отдаленным посттрансплантационным периодом.

На основании этих данных проведен сравнительный анализ нозологических групп с целью выявления наиболее значимых факторов, способных оказать негативное влияние на выживаемость после трансплантации легких.

С целью систематизации полученных клинических данных и оценки влияния диагност-специфических факторов произведено разделение изученных наблюдений на 4 группы по общепринятой методике, в соответствии с основной нозологической формой заболевания [Weill D., 2015]:

- I группа: заболевания легких с наличием хронической инфекции – муковисцидоз (МВ), бронхоэктатическая болезнь (БЭБ);
- II группа: заболевания, характеризующиеся обструктивным поражением и эмфизематозной трансформацией легочной ткани – хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), первичная эмфизема легких (ПЭЛ), лимфангиолейомиоматоз (ЛАМ), недостаточность альфа-1-антитрипсина (НА1-АТ);
- III группа: заболевания, характеризующиеся рестриктивным поражением легких – идиопатический легочный фиброз (ИЛФ), экзогенный аллергический альвеолит (ЭЭА), гистиоцитоз клеток Лангерганса и гистиоцитоз X (ГКЛ/ГХ);
- IV группа: заболевания, характеризующиеся патологией сосудистой системы легких – первичная легочная гипертензия (ПЛГ), идио-

патическая легочная гипертензия (ИЛГ). Также в данную группу отнесены реципиенты комплекса сердце-легкие. Среди пациентов, перенесших трансплантацию сердечно-легочного комплекса, у 2 основным заболеванием являлся синдром Эйзенменгера и у 1 пациента – идиопатическая легочная гипертензия.

Факторы, ассоциированные с дотрансплантационным анамнезом

В нашей серии наблюдений у реципиентов отсутствовала избыточная масса тела, однако у 14 (21%) пациентов отмечался низкий нутритивный статус с ИМТ ниже 16 кг/м^2 .

С целью повышения и поддержания массы тела 14 пациентам в дотрансплантационном периоде выполнена пункционная гастростомия. На фоне питания в режиме гипералиментации у всех реципиентов с гастростомой отмечено повышение ИМТ $> 16 \text{ кг/м}^2$ к моменту трансплантации. Несмотря на дополнительное питание через гастростому, к моменту трансплантации у 7 пациентов ИМТ был $< 16 \text{ кг/м}^2$. У реципиентов с ИМТ < 16 чаще развивались осложнения, связанные с наличием ЭКМО в раннем послеоперационном периоде, чем у реципиентов с ИМТ > 16 ($\phi_c = -0,324$, $p = 0,05$).

Наибольшее количество «возрастных» реципиентов (старше 55 лет) отмечено во II и III сравнительной группах. Достоверно выявлено, что реципиенты легких, которым операция была выполнена до 55 лет, имеют лучшие показатели функции дыхания (ФЖЕЛ, ОФВ1) как в дотрансплантационном периоде ($t = 0,449$, $p = 0,01$), так и на ранних сроках после трансплантации ($t = 0,375$, $p = 0,01$) в сравнении с реципиентами старшей возрастной группы. При этом уже через год после трансплантации достоверной разницы в функции дыхания реципиентов разных возрастных групп не выявлено ($p = 0,188$).

Наибольший средний показатель LAS отмечен в III сравнительной группе, что в первую очередь связано с быстрым прогрессированием дыхательной недостаточности и астенизацией реципиентов в данной группе. По результатам проведенного анализа достоверно выявлено, что более высокий показатель LAS является предиктором худших показателей ОФВ1 ($t = -0,338$, $p = 0,05$) и ФЖЕЛ ($t = 0,397$, $p = 0,02$) в отдаленном периоде.

Среди всех реципиентов легких наличие хронической бактериальной или грибковой инфекции дыхательных путей обнаружено только у пациентов из первой сравнительной группы (29 человек), из них у 18 выявлено 2 и более возбудителя инфекции. Наиболее частой хронической респираторной инфекцией являлись: *Ps. aeruginosa* (50%), *B. cepacia* (19%) и *Ach. xylosoxidans* (11%).

У реципиентов с хронической инфекцией дыхательных путей в раннем послеоперационном периоде чаще развивалась почечная недостаточность (снижение СКФ < 60 мл/мин/1,73м²) ($\phi_c = 0,455$, $p = 0,02$). Установлено, что у реципиентов с хроническим высевом *B. cepacia* достоверно чаще развивалась дыхательная недостаточность в отдаленном периоде ($\phi_c = 0,577$, $p = 0,05$). У реципиентов с хроническим инфицированием *Ps. aeruginosa* чаще развивались хирургические осложнения в раннем послеоперационном периоде ($\phi_c = 0,320$, $p = 0,03$).

Факторы, ассоциированные с ранним послеоперационным периодом

У 37 (56%) пациентов в связи с невозможностью проведения интраоперационно однологочной вентиляции или из-за тяжести застойной сердечной недостаточности потребовалась постановка системы экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) по вено-артериальному типу. Основными нозологическими группами, нуждавшимися в протезировании дыхательной функции на период операции, являлись пациенты I (69%), IV (67%) и III (50%) сравнительных групп, тогда как пациенты II группы нуждались в поддержке системой ЭКМО только в 29% случаев [Попцов В.Н., 2019].

Из 37 пациентов, которым была выполнена постановка системы ЭКМО, у 17 (46%) пациентов развились осложнения в раннем послеоперационном периоде, среди которых: тромбоз общей бедренной артерии (12); тромбоз общей бедренной вены (3); формирование артериовенозной фистулы в зоне стояния ЭКМО (2).

У 27 (41%) пациентов в периоперационном периоде развились хирургические осложнения. 8 пациентам выполнены повторные операции на грудной клетке, в том числе одному пациенту выполнена серия операций по поводу несостоятельности бронхиального анастомоза и эмпиемы плевры, окончившаяся трансплантатэктомией.

У 23 (34,8%) пациентов в раннем послеоперационном периоде развились инфекционные осложнения. В общей сложности по поводу инфекционных осложнений выполнено 3 хирургических вмешательства. У 2 пациентов выполнена торакостомия с постановкой вакуумной терапевтической системы.

Установлена достоверная взаимосвязь между повторными хирургическими вмешательствами и наличием пневмонии ($\phi_c = 0,353$, $p = 0,004$) в раннем послеоперационном периоде.

Отдаленный период после трансплантации легких

В представленной когорте пациентов на конец июня 2021 года у 11 пациентов сроки наблюдения превысили 5 лет, 23 и 22 пациента находились на промежутке в 3–5 лет и 1–3 года соответственно, и 10 пациентов еще не достигли годовичного срока наблюдения.

В рамках оценки отдаленных сроков после трансплантации легких были изучены показатели:

- функция внешнего дыхания трансплантированных легких;
- наличие острой или хронической дисфункции трансплантированных легких;
- повторные операции на грудной клетке в отдаленном периоде;
- бронхиальные и инфекционные осложнения в отдаленном периоде;
- наличие патологических состояний и заболеваний, связанных с длительным приемом иммуносупрессивной терапии;
- наличие злокачественных новообразований.

По результатам оценки функции внешнего дыхания в раннем и отдаленном послеоперационном периоде выявлены следующие аспекты пост-трансплантационного периода.

Выявлена достоверная зависимость динамики функции дыхания от нозологической группы через 3 года после трансплантации ($\phi_c = 0,567$, $p = 0,01$).

Реципиенты III сравнительной группы имели худшие показатели ЖЕЛ и ОФВ1 на всем протяжении отдаленного периода, начиная с первого года после трансплантации.

Наиболее стабильные показатели функции дыхания в отдаленном периоде наблюдались у реципиентов I и IV сравнительных групп, тогда как во II сравнительной группе выявлено большее количество пациентов с хронической дисфункцией трансплантированных легких и снижением ОФВ1 (рис. 1, 2).

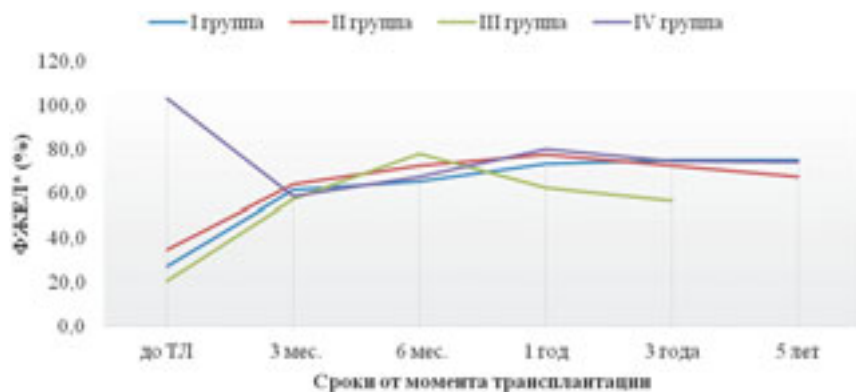


Рис. 1. Динамика форсированной жизненной емкости легких в течение 5 лет после трансплантации в соответствии с нозологической группой

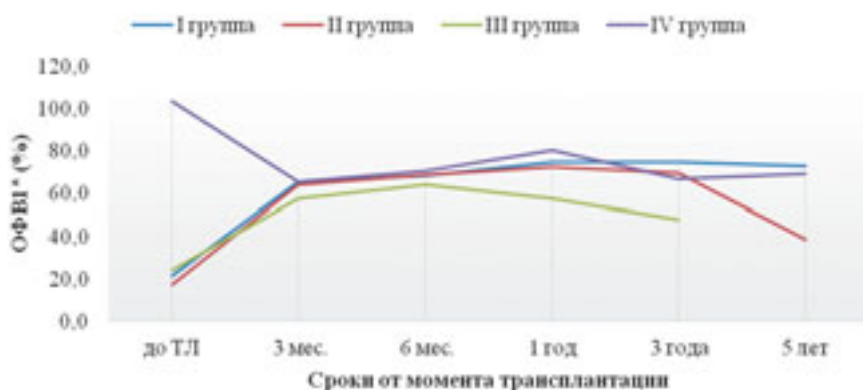


Рис. 2. Динамика объема форсированного выдоха в первую секунду в течение 5 лет после трансплантации в соответствии с нозологической группой

У 11 (16%) пациентов при динамическом наблюдении выявлено снижение ОФВ1 $> 20\%$ от максимальных послеоперационных показателей, что расценено как хроническая дисфункция трансплантата. Из 11 пациентов с хронической дисфункцией транспантированных легких потребность в кислородотерапии развилась только у 5, из них 2 пациентам потребовалось проведение постоянной кислородотерапии. По результатам комплексного обследования пациентов и исключения других причин снижения функции дыхания 11 пациентам со снижением ОФВ1 $> 20\%$ установлен диагноз хронической дисфункции транспантированных легких. Из 11 пациентов 4 пациента умерло в течение 1 года после постановки диагноза. Наблюдение еще 7 пациентов с медленно прогрессирующей дыхательной недостаточностью на фоне хронической дисфункции трансплантата продолжается по настоящее время.

За пятилетний период наблюдения у 20 (30%) реципиентов выявлены случаи развития бронхиальных осложнений, из них у 9 имело место комбинированное поражение (рис. 3).

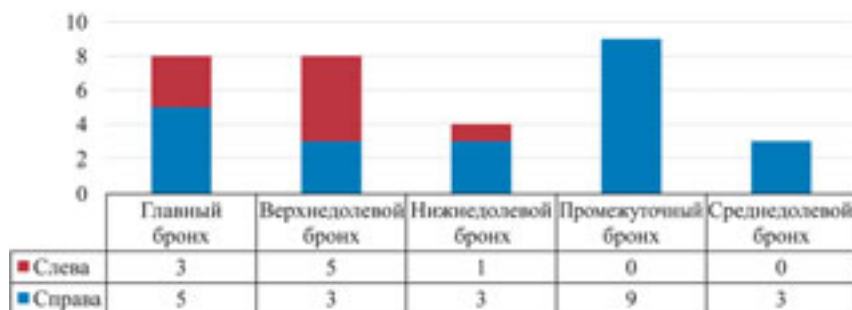


Рис. 3. Локализация бронхиальных осложнений после трансплантации легких

Наибольшее количество бронхиальных осложнений у реципиентов легких возникло в период с 6 месяцев до 2 лет. У 9 пациентов в связи с рецидивирующим бронхиальным стенозом выполнена постановка эндо-бронхиального стента, в 4 случаях потребовалось рестентирование.

Сравнительный анализ нозологических групп не выявил достоверного влияния на развитие бронхиальных осложнений ($p = 0,278$). Тем не менее в процентном соотношении наибольшее количество бронхиальных осложнений отмечено в I и II сравнительной группах (табл. 1).

Таблица 1

**Бронхиальные осложнения в соответствии
с нозологической группой**

Бронхиальные осложнения	Нозологическая группа			
	I	II	III	IV
Есть	10 (34%)	7 (41%)	2 (25%)	1 (8%)
Нет	19	10	6	11

В связи с пожизненным приемом иммуносупрессивной терапии у реципиентов солидных органов в отдаленном посттрансплантационном периоде формируется состояние стойкой медикаментозной иммуносупрессии, значимо влияющее на риск возникновения вирусных, грибковых и оппортунистических инфекций.

Установлено, что у 42 реципиентов за пятилетний период наблюдения имелись инфекционные осложнения, наиболее частым среди которых являлась пневмония. Наиболее частой формой являлась полисегментарная пневмония. При этом в правом трансплантате воспалительные изменения развивались чаще ($n = 14$), чем в левом ($n = 6$). У 15 пациентов отмечались явления хронического гнойного бронхита, по поводу чего все пациенты проходили курсы комплексной антибактериальной терапии, несмотря на проводимую антибактериальную терапию, у двух пациентов установлено развитие бронхоэктазов в трансплантированных легких. У пациентов, имевших в послеоперационном периоде пневмонии, достоверно чаще встречались бронхиальные осложнения ($\phi_c = 0,272$, $p = 0,03$). Пациенты, имевшие обострения хронического гнойного бронхита в послеоперационном периоде, также имели большие риски развития бронхиальных осложнений ($\phi_c = 0,294$, $p = 0,02$). Реципиенты с анамнезом хронической респираторной инфекции имели статистически большую частоту развития бронхиальных осложнений ($p = 0,01$).

У 24 реципиентов через 3 месяца после трансплантации имелась в разной степени почечная дисфункция ($СКФ < 80$ мл/мин/1,73м²). У 4 пациентов явления почечной недостаточности полностью регрессировали к 6 месяцам. В то же время у 17 пациентов выявлено прогрессирование почечной недостаточности на сроках 6 месяцев (5 пациентов) и 1 год (12 пациентов).

В период наблюдения с 2 лет и далее только у 6 пациентов диагностирована впервые выявленная почечная недостаточность.

В отдаленном периоде в связи с развитием почечной недостаточности или бронхиальных осложнений производилась коррекция иммуносупрессивной терапии в виде назначения Эверолимуса с последующим снижением дозировки Такролимуса до достижения целевой суммарной концентрации Такролимуса и Эверолимуса 10–12 нг/мл. С целью снижения риска гипериммуносупрессии препараты микофеноловой кислоты отменялись.

Кроме этого, коррекция иммуносупрессивной терапии выполнялась и в случае диагностики рецидивирующих бронхиальных стенозов. В этом случае назначение Эверолимуса было продиктовано наличием у него антипролиферативных эффектов, что использовалось в комплексной терапии бронхиальных стенозов. При оценке показателей отдаленного периода установлено, что к моменту достижения трехлетней выживаемости количество пациентов, принимающих Эверолимус и микофеноловую кислоту, сравнялось. После 5 лет количество пациентов, принимающих Эверолимус в качестве третьего компонента иммуносупрессивной терапии, превысило 60% (рис. 4).

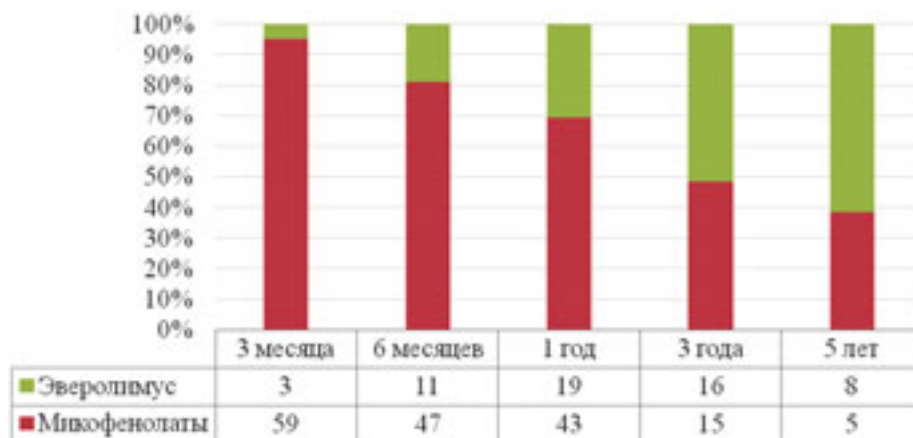


Рис. 4. Соотношение числа пациентов, принимающих препараты микофеноловой кислоты или Эверолимус в зависимости от сроков после трансплантации

У 3 реципиентов в разные сроки после трансплантации выявлено развитие двусторонней ГКС-ассоциированной катаракты, при этом признаков наличия офтальмопатии до трансплантации у данных реципиентов не выявлено. Этим реципиентам в течение года после выявления катаракты выполнена факэмульсификация катаракты, прошедшая с положительным эффектом, без осложнений.

По данным, представленным на рис. 5, основная доля бронхиальных осложнений приходится на первые 2 года после трансплантации легких.

При этом установлено, что пациенты, не имевшие в анамнезе инфекционных осложнений, имели бронхиальные осложнения только в течение первого года после трансплантации легких.

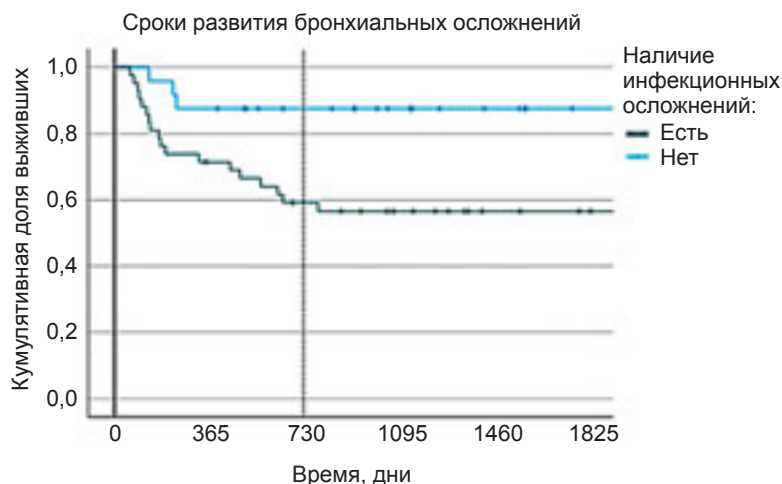


Рис. 5. Развитие бронхиальных осложнений, в зависимости от событий инфекционного характера

Исходя из данных анализа инфекционных осложнений установлено, что наибольшее количество осложнений данного типа приходилось на пациентов I сравнительной группы. Наименьшее количество бронхиальных осложнений отмечено в IV сравнительной группе, где частота инфекционных осложнений была минимальной (рис. 6).

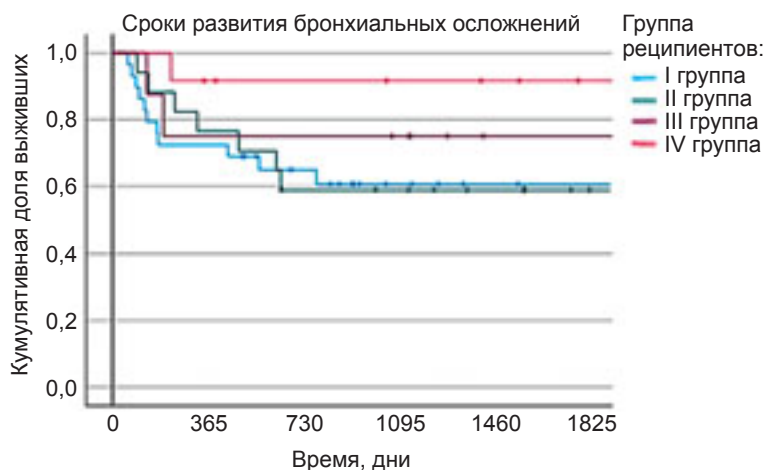


Рис. 6. Развитие бронхиальных осложнений в зависимости от нозологической группы исходного заболевания

При оценке пятилетнего периода наблюдения реципиентов легких установлено развитие хронической болезни почек у 40% пациентов. При этом наиболее часто ХБП манифестировала в течение первого года после трансплантации (15%).

При анализе влияния принадлежности реципиента к нозологической группе на частоту развития почечной недостаточности установлено, что пациенты IV сравнительной группы были наименее подвержены данному осложнению, тогда как пациенты I, II и III групп имели сходную динамику по развитию данного осложнения в отдаленном периоде (рис. 7).

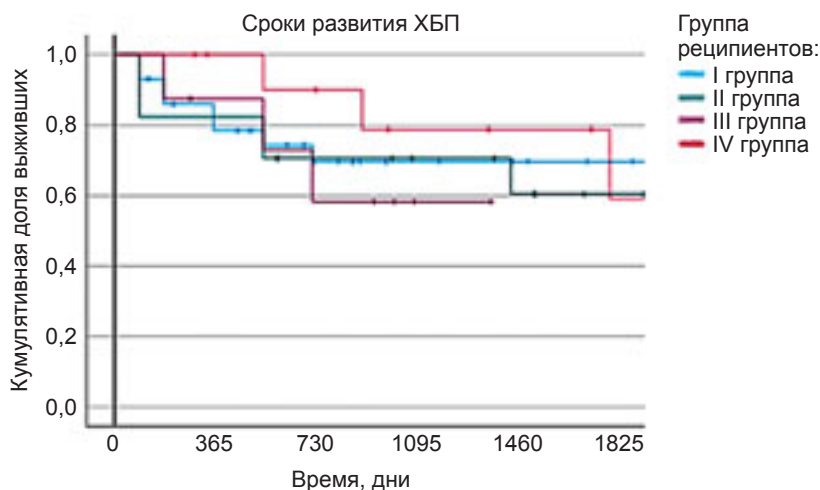


Рис. 7. Сроки развития хронической болезни почек в зависимости от нозологической группы

В изученной группе пациентов за период пятилетнего наблюдения развитие хронической дисфункции трансплантированных легких установлено у 31 (46,9%) реципиента, из них у 11 (16,7%) установлен диагноз «синдром облитерирующего бронхиолита». Наиболее часто дисфункция трансплантированных легких выявлялась в течение первого года после трансплантации (25%).

При оценке влияния основного диагноза на риски развития дисфункции трансплантата установлено, что пациенты II и III сравнительных групп имели большее количество дисфункций (рис. 8).

При оценке инфекционных осложнений установлено, что среди пациентов с инфекционным анамнезом отмечена большая частота дисфункций трансплантированных легких ($p = 0,02$). При этом только у 2 реципиентов, не имевших инфекционных осложнений, явления хронической дисфункции выявлены в течение первых трех лет после трансплантации (рис. 9).

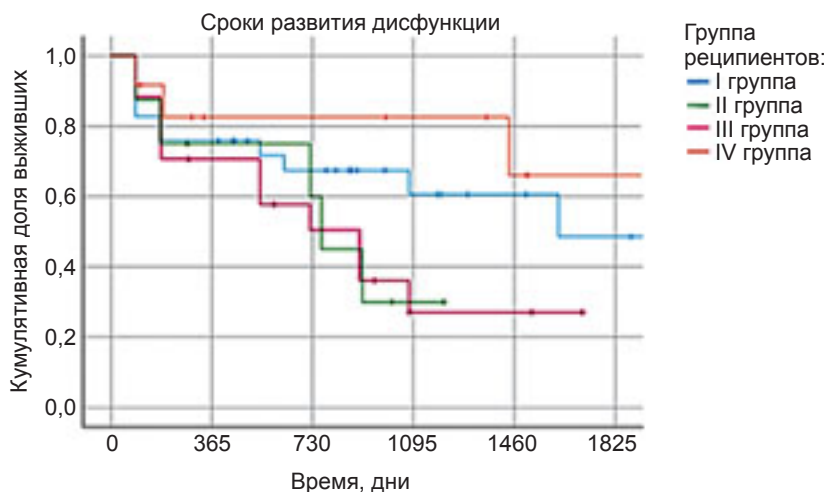


Рис. 8. Сроки и частота развития дисфункции трансплантата в разных нозологических группах

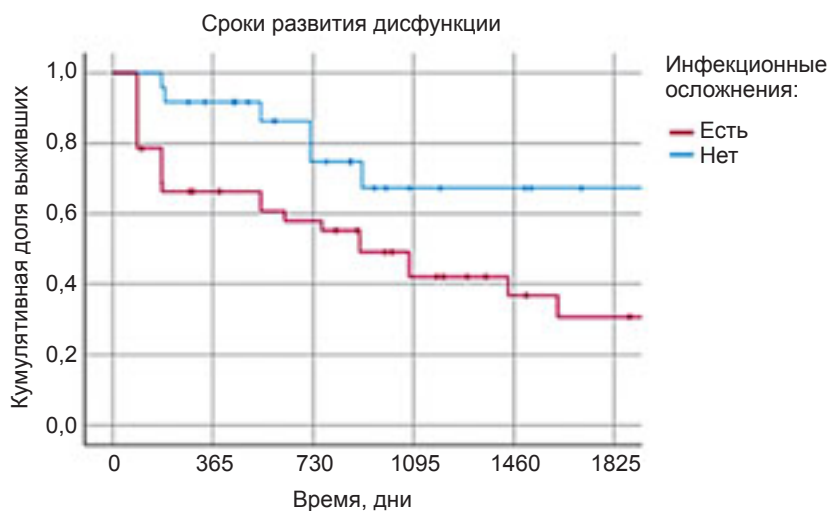


Рис. 9. Частота развития дисфункции трансплантированных легких у реципиентов с наличием и без анамнеза инфекционных осложнений

Основываясь на полученных результатах, было установлено, что диагноз заболевания легких коррелирует с выживаемостью и рисками развития осложнений в отдаленном периоде после трансплантации легких.

Так, пациенты I и II сравнительных групп имели сравнительно большее количество инфекционных осложнений и впоследствии бронхиальных осложнений, что значительно влияло на выживаемость в отдаленном пост-трансплантационном периоде.

Реципиенты III сравнительной группы имели дотрансплантационные факторы риска (возраст, высокий показатель LAS, низкий реабилитационный потенциал), что являлось самостоятельным фактором риска неблагоприятного течения посттрансплантационного периода, и как следствие, низкой послеоперационной выживаемости в данной группе реципиентов.

Реципиенты IV сравнительной группы имели меньшую частоту осложнений, связанных с дисфункцией трансплантированных легких и сопутствующих осложнений, что в целом благоприятно сказывалось на результатах отдаленного посттрансплантационного периода. Однако наличие почечной недостаточности в дотрансплантационном периоде значительно увеличивало риск прогрессирования почечной недостаточности в отдаленном периоде для данной группы пациентов.

У всех групп пациентов отмечено достоверное влияние инфекционных осложнений на риски развития бронхиальных осложнений и дисфункцию трансплантата.

При оценке продолжительности жизни реципиентов легких, достигших границ трехмесячной выживаемости, установлено, что на сроках 1 год, 3 года и 5 лет общая выживаемость составила 92%, 83%, 74% соответственно. При анализе выживаемости по нозологическим группам установлено, что худшие показатели выживаемости достигнуты в III сравнительной группе, что делает эту группу наименее перспективной в качестве потенциальных реципиентов легких (рис. 10, 11).

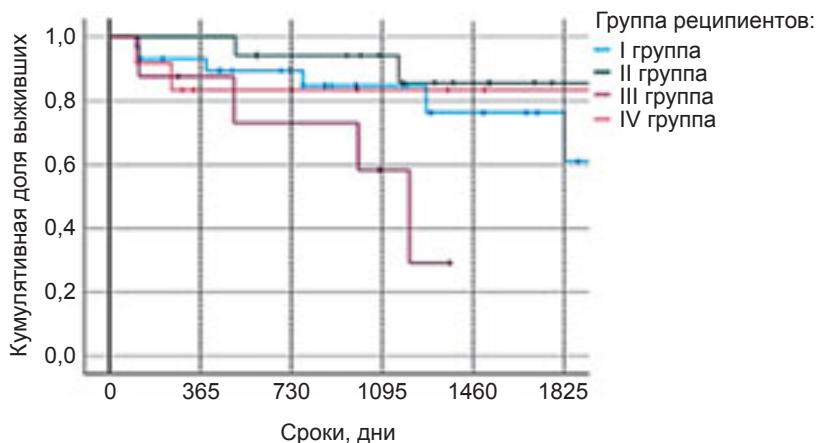


Рис. 10. Выживаемость реципиентов легких в соответствии с нозологической группой

При итоговой оценке общей выживаемости и сравнении показателей с данными ISHLT получены сопоставимые результаты. В связи с этим можно сделать вывод, что протоколы ведения пациентов, используемые

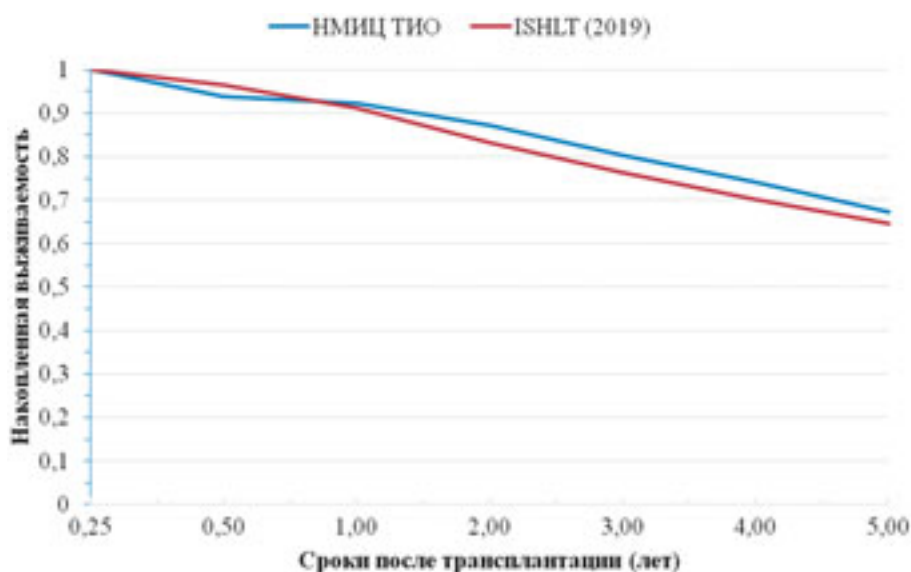


Рис. 11. Сравнение выживаемости после 3 месяцев по данным реестра международного общества трансплантации сердца и легких (ISHLT) за 2019 год и опыта ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

в клинической практике в ФГБУ «НМИЦ ТИО», эффективны, с учетом степени дотрансплантационной тяжести реципиентов.

Заключение

Основными задачами данного исследования являлись изучение факторов риска развития нежелательных явлений в отдаленном послеоперационном периоде и вариантов их коррекции. Большое количество зарубежных публикаций по данной тематике говорит о том, что существуют различные методы ведения реципиентов легких, а большинство трансплантологических центров придерживается протоколов, основанных на собственном опыте и технических возможностях.

Сравнение с данными, представленными ISHLT, показало сопоставимые результаты, за исключением реципиентов с рестриктивными заболеваниями легких, отнесенных к III сравнительной группе. Данные показатели обусловлены тяжелым состоянием потенциальных реципиентов еще на дотрансплантационном периоде, и как следствие, низким реабилитационным потенциалом в посттрансплантационном периоде. Это соответствует данным исследований, проведенных другими трансплантологическими центрами [Weill D., 2015; Orens J.B., Merlo C.A., 2018; Dupont L., 2017].

Выживаемость реципиентов легких в исследованной группе на сроках 1 год, 3 года и 5 лет составила 92%, 83%, 74% соответственно, что сопоставимо с результатами, представленными ISHLT в 2019 году, где за период с июня 2010 года по июнь 2017 года выживаемость составила 84,8% для первого года, 70,3% для 3 лет и 58,6% для 5 лет. Исходя из представленных результатов можно сделать вывод, что используемые в настоящее время в НМИЦ ТИО им ак. В.И. Шумакова протоколы ведения реципиентов легких в послеоперационном периоде достаточно эффективны и сопоставимы с общемировыми результатами.

Частота бронхиальных осложнений, описанных в доступных мировых источниках, крайне разнообразна и составляет от 1,6 до 33% по разным источникам. Всего в нашей серии наблюдений бронхиальные осложнения выявлены у 30% реципиентов, что сопоставимо с общемировыми данными [Frye L., Machuzak M., 2017].

Наиболее грозным осложнением при трансплантации легких считается развитие хронического отторжения трансплантата. Почти у 50% реципиентов развивается хроническая форма отторжения донорских легких в виде синдрома облитерирующего бронхиолита. Медиана выживаемости при этом составляет 3–5 лет [Parulekar A.D., 2019]. В нашем исследовании у 47% пациентов в течение пятилетнего периода развились различные формы дисфункции трансплантированных легких. Из них только у 17% причиной дисфункции стало хроническое отторжение трансплантированных легких, что статистически меньше, чем в изученной мировой литературе. Основными событиями, с которыми было сопряжено развитие дисфункции трансплантата, стали инфекционные осложнения и факторы, связанные с нозологической формой основного заболевания (аутоиммунное поражение легких у некоторых пациентов III сравнительной группы).

Острая почечная недостаточность развивается у 33–69% реципиентов легких, из них от 17 до 37% нуждались в заместительной почечной терапии. Более того, смертность среди реципиентов легких с острой почечной недостаточностью в раннем послеоперационном периоде составила 16–50% и напрямую зависела от степени почечной недостаточности [Puttarajappa S.M., 2019]. Анализируя данные нашего исследования, нужно отметить, что частота развития острой почечной недостаточности составила 40% случаев, что сопоставимо с приведенными мировыми данными.

Явления почечной недостаточности в первые 3 месяца после трансплантации (олигоурия, повышение уровня мочевины и креатинина) в первую очередь связаны с периоперационными особенностями и течением раннего послеоперационного периода. У большей части реципиентов в последующем отмечалась регрессия маркеров почечной недостаточности на фоне консервативной терапии. В то же время реципиенты легких, имевшие признаки ОПН в раннем послеоперационном периоде, имели большие риски развития почечной недостаточности в отдаленном периоде.

Выводы

1. Наиболее частыми осложнениями у реципиентов донорских легких в отдаленном посттрансплантационном периоде являются: инфекционные осложнения (63,6%), развитие хронической почечной недостаточности (34,8%), бронхиальные осложнения (30%), хроническая форма отторжения трансплантированных легких (16%). Частота и сроки развития осложнений в отдаленном периоде индивидуальны для каждой конкретной нозологической группы.
2. Наиболее частыми факторами осложнений в отдаленном посттрансплантационном периоде являются: пожилой возраст (>55 лет) ($p = 0,02$), низкий индекс массы тела (<16) ($p = 0,02$), высокий уровень LAS ($p = 0,02$), наличие показаний к экстракорпоральной поддержке мембранным оксигенатором в периоперационном периоде ($p = 0,02$), первичная дисфункция трансплантата ($p = 0,02$); наличие хронической респираторной инфекции ($p = 0,02$).
3. Наиболее подверженными осложнениям в посттрансплантационном периоде являются реципиенты с инфекционными осложнениями. У реципиентов легких с наличием инфекционных осложнений чаще выявляются бронхиальные осложнения ($p = 0,01$) и хроническая дисфункция трансплантированных легких ($p = 0,02$). У реципиентов легких с наличием хронического инфекционного процесса, а как следствие с длительным анамнезом антибактериальной терапии чаще выявляется хроническая почечная недостаточность ($p = 0,02$).
4. Иммуносупрессивная терапия у реципиентов легких, в условиях риска развития основных осложнений в отдаленном посттрансплантационном периоде, предусматривает постепенное изменение протокола терапии в сторону использования ингибиторов m-Tor при снижении доз ингибиторов кальциневрина и отмены препаратов микофеноловой кислоты.
5. Принципом ведения реципиентов легких в отдаленном посттрансплантационном периоде является комплексное обследование и лечение пациентов, направленное на своевременное выявление и коррекцию осложнений, а также контроль и своевременная коррекция иммуносупрессивной и адъювантной терапии.

Практические рекомендации

1. С целью снижения риска осложнений раннего послеоперационного периода, а как следствие и отдаленного периода, связанных с низким индексом массы тела (<16 кг/м²), на дотрансплантационном этапе рекомендуется выполнение пункционной гастростомии и увеличение суточного калоража питания до достижения целевого уровня индекса массы тела (ИМТ более 16 кг/м²).

2. У пациентов с хроническим инфицированием дыхательных путей проводится эрадикационная противомикробная терапия до трансплантации и в послеоперационном периоде.
3. После окончания стационарного этапа лечения всем реципиентам рекомендуется ежемесячное амбулаторное наблюдение в течение полугода после трансплантации, далее каждые 3 месяца в течение первых двух лет. По достижении двухлетнего срока наблюдения амбулаторный контроль проводится каждые 6 месяцев.
4. При отсутствии снижения индекса массы тела $<16 \text{ кг/м}^2$ в течение 6 месяцев после трансплантации питание через гастростому отменяется. При дальнейшей стабилизации индекса массы тела гастростомическая трубка удаляется, пациент полностью переводится на обычный режим питания.
5. В случае возникновения дисфункции трансплантата или развития осложнений проводится внеплановое амбулаторное обследование, решение вопроса о необходимости госпитализации в плановом или срочном порядке.
6. Всем реципиентам с наличием хронической инфекции дыхательных путей проводится анализ мокроты на наличие патогенной флоры и чувствительность к антибактериальной терапии. Частота данного исследования зависит от клинической картины и частоты проявления инфекционных осложнений. Минимальная частота оценки микрофлоры дыхательных путей должна быть не реже 1 раза в год. При отсутствии достаточного количества мокроты проводится санационная бронхоскопия с взятием бронхиального смыва.
7. В качестве основополагающего метода исследования функции трансплантированных легких используется спирометрия. Оценка функции внешнего дыхания производится на сроках в 1, 3, 6 и 12 месяцев в течение первого года после трансплантации, далее спирометрия проводится каждые 6 месяцев. При снижении функции дыхания более чем на 10% от максимального показателя необходимо комплексное обследование (компьютерная томография, бронхоскопия) с целью верификации патологических состояний (бронхиальные осложнения, пневмония, отторжение и др.).
8. При снижении функции дыхания по данным спирометрии более чем на 20% или при наличии клинической картины дыхательной недостаточности (одышка, снижение $\text{SpO}_2 > 90\%$) и отсутствии других причин для дисфункции трансплантированных легких пациенту показано проведение бронхобиопсии с целью исключения острого отторжения.
9. С целью выявления бронхиальных осложнений и исключения онкопатологии проводится компьютерная томография не реже 1 раза в год.

10. При выявлении бронхиальных осложнений необходима госпитализация пациента для проведения эндоскопического хирургического лечения с динамическим контролем через 2 недели, 1, 3, 6 месяцев после проведенного эндоскопического вмешательства.
11. При рецидивирующем течении бронхиального стеноза показано эндоскопическое стентирование участка на 3–6 месяцев. С целью контроля прогрессирования рубцового процесса по краевым участкам стента необходимо проведение контрольной компьютерной томографии или бронхоскопии через 3 и 6 месяцев после постановки стента.
12. При наличии признаков почечной недостаточности в раннем послеоперационном периоде пациентам проводится коррекция иммуносупрессивной терапии в сторону уменьшения дозировки ингибиторов кальциневрина. При отсутствии рисков инфекционных осложнений и консолидации послеоперационной раны пациентам назначается Эверолимус с целевой концентрацией 6–8 нг/мл, препараты микофеноловой кислоты отменяются.
13. Эхокардиография проводится каждые 6 месяцев в течение 2 лет после трансплантации, далее 1 раз в год. При выявлении легочной гипертензии проводится диагностика патологии сердца и малого круга кровообращения. При отсутствии органического поражения, поддающегося хирургической коррекции, пациенту назначается ЛАГ-специфическая терапия с последующим контролем давления в легочной артерии каждые 3 месяца.
14. Наличие осложнений, связанных с длительным приемом ингибиторов кальциневрина (почечная недостаточность, неврологические нарушения и др.), является показанием для снижения дозировки иммуносупрессивного препарата под строгим контролем функции трансплантата.
15. В рамках онкологического скрининга всем пациентам рекомендуется проходить скрининговое обследование у дерматолога и онколога не реже 1 раза в год. Показано проведение гастроскопии 1 раз в год и колоноскопии 1 раз в 2–3 года.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Трансплантация легких при первичной легочной артериальной гипертензии: особенности периоперационного периода / В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, И.В. Пашков, А.В. Беликова, Д.О. Олешкевич, Р.А. Латыпов, О.М. Цирульникова, А.С. Епремян, **Е.Ф. Шигаев**, С.В. Готье // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 30–37.
2. Экспрессия микроРНК у реципиентов легких: корреляции с клиническими и лабораторными данными / О.П. Шевченко, С.О. Шарапченко, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий, **Е.Ф. Шигаев**, Д.О. Олеш-

- кевич, М.Т. Беков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 86–96.
3. Лечение экспираторного стеноза трахеи в сочетании с бронхоэктатической болезнью у реципиента донорских легких (первое наблюдение в Российской Федерации) / И.В. Пашков, А.В. Никулин, Д.О. Олешкевич, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, **Е.Ф. Шигаев**, А.Г. Сухорукова, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Е.В. Лебедев, Я.С. Якунин // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 162–167.
 4. Случай успешного лечения синдрома исчезающего промежуточного бронха после трансплантации легких / И.В. Пашков, М.Т. Беков, Р.А. Латыпов, Д.О. Олешкевич, **Е.Ф. Шигаев**, Е.В. Лебедев, К.С. Смирнов, С.В. Готье // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 183–191.
 5. MiR-339 and galectin-3: diagnostic value in patients with airway obstruction after lung transplantation / Olga Shevchenko, Olga Tsurulnikova, Sofya Sharapchenko, Ivan Pashkov, Maksat Bekov, **Egor Shigaev**, Olga Gichkun, Dmitriy Velikiy, Sergey Gautier // Transplant International. – 2021. – Т. 34. – № 9. – С. 1733–1739.

Список сокращений

ГКС	–	глюкокортикостероиды
ИВЛ	–	искусственная вентиляция легких
ИМТ	–	индекс массы тела
ОЕЛ	–	общая емкость легких
ОПН	–	острая почечная недостаточность
ОФВ1	–	объем форсированного выдоха в первую секунду
СКФ	–	скорость клубочковой фильтрации
ФЖЕЛ	–	форсированная жизненная емкость легких
ХБП	–	хроническая болезнь почек
ХОБЛ	–	хроническая обструктивная болезнь легких
ЭКМО	–	экстракорпоральная мембранная оксигенация (система бивентрикулярного обхода сердца, дополненная мембранной оксигенацией)
AUC	–	(Area Under Curve) площадь под кривой
ISHLT	–	(International Society for Heart and Lung Transplantation) Международное общество трансплантации сердца и легких
LAS	–	(lung allocation score) специализированная шкала балльной оценки тяжести реципиентов легких
TLC	–	(total lung capacity) прогнозируемая общая емкость легких

**МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИЙ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК**

ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ МАТРИКСЫ ИЗ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ ПЕЧЕНИ И СУСТАВНОГО ХРЯЩА ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Кириллова А.Д., Немец Е.А., Севастьянов В.И.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Актуальность темы исследования

Дефицит донорских органов диктует необходимость поиска альтернативных трансплантации подходов к лечению заболеваний различных органов. Одним из таких подходов является разработка клеточно-инженерных конструкций для замещения функций поврежденных органов или стимуляции процессов их физиологической регенерации [Севастьянов В.И., 2014].

Основными компонентами клеточно-инженерных конструкций, являющимися биомедицинскими клеточными продуктами, являются:

- 1) клеточные культуры, способные сформировать функциональный внеклеточный матрикс;
- 2) матриксы, выполняющие роль трехмерных носителей клеточного материала, каркасов и в ряде случаев питательной среды при формировании 3D-тканевых структур;
- 3) биоактивные молекулы – цитокины и факторы роста, стимулирующие процессы миграции и дифференцировки клеток.

На данный момент для создания матриксов используют множество материалов, как природного, так и синтетического происхождения [Севастьянов В.И. и др., 2011]. Однако наиболее перспективными на сегодняшний день являются тканеспецифические матриксы, полученные после децеллюляризации нативных тканей и органов. Известно, что основной функцией внеклеточного матрикса является обеспечение жизнедеятельности и функциональной активности клеточных структур. Именно тканеспецифические матриксы могут в наибольшей степени имитировать специфичный состав и структуру внеклеточного матрикса различных органов и тканей, что обуславливает их потенциальную способность эффективно стимулировать

пролиферацию и дифференцировку клеток, и соответственно, регенерацию поврежденной ткани. Заметим, что при разработке способов и режимов децеллюляризации следует учитывать не только структурные особенности исходной ткани, но и ее видовую специфичность.

Основная проблема при удалении клеточного и генного материала в процессе децеллюляризации заключается в необходимости максимально возможного сохранения структурных и биохимических свойств, присущих внеклеточному матриксу нативной ткани или органов [Wang Y. et al., 2015]. В связи с этим, на наш взгляд, целесообразным является децеллюляризация не целого органа, а его фрагментов [Севастьянов В.И. и др., 2020; Готье С.В. и др., 2019], что позволяет увеличить эффективность обработки ткани децеллюляризирующими агентами и уменьшить время их воздействия. Кроме того, в случае микронизации децеллюляризованных фрагментов происходит еще большее увеличение площади контакта матрикса со средой при сохранении его общего объема, что улучшает адгезию и пролиферации клеток.

Цель исследования

Разработка и исследование тканеспецифических матриксов тканей печени и суставного хряща для создания биомедицинских клеточных продуктов.

Задачи исследования

1. Изучить влияние видовой специфичности и морфологии исходной ткани на изменение структуры, концентрации ДНК и гликозаминогликанов в процессе децеллюляризации.
2. Найти оптимальные способы и режимы децеллюляризации ткани печени крысы, свиньи и суставного хряща свиньи.
3. Разработать лабораторные регламенты децеллюляризации ткани печени и суставного хряща свиньи.
4. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* оценить биологическую безопасность тканеспецифических матриксов из децеллюляризованных тканей печени и суставного хряща свиньи.
5. Исследовать *in vitro* функциональные свойства тканеспецифических матриксов из децеллюляризованных тканей печени и суставного хряща свиньи.

Научная новизна

- Установлены особенности процесса децеллюляризации ткани печени в зависимости от ее видовой специфичности и принципиальные различия в процессе децеллюляризации ткани печени и хрящевой ткани.

- Проведено сравнительное исследование морфологических и биохимических свойств тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных тканей, различающихся по видовой специфичности и типу.
- Разработаны лабораторные регламенты децеллюляризации ткани печени и суставного хряща свиньи, обеспечивающие наименьшие изменения микроархитектоники ткани, а также содержания гликозаминогликанов, по сравнению с исходной тканью, при минимальном количестве ДНК.
- В экспериментах *in vitro* и *in vivo* доказана биологическая безопасность тканеспецифических матриксов из децеллюляризованной ткани печени и суставного хряща свиньи.
- В экспериментах *in vitro* доказана способность тканеспецифических матриксов из децеллюляризованной ткани печени и суставного хряща свиньи поддерживать жизнеспособность и специфическую активность клеточных культур.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в ходе проведения исследования результаты являются основой для разработки клеточно-инженерных конструкций печени и хряща, в которых одним из основных компонентов будет тканеспецифический матрикс на основе ксеногенных децеллюляризованных тканей печени и суставного хряща.

Методология и методы диссертационного исследования

В качестве объектов исследования были выбраны печень крысы и свиньи, суставной хрящ свиньи, а также образцы тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных тканей печени и хряща.

В работе применяли комплекс методов: гистологических для анализа морфологических особенностей объектов исследования, флуоресцентной микроскопии для первичной оценки эффективности децеллюляризации, биохимические методы для количественной оценки ДНК и содержания гликозаминогликанов в децеллюляризованной ткани.

Биосовместимые свойства тканеспецифических матриксов оценивали *in vitro* по степени цитотоксичности и гемолитической активности образцов и *in vivo* при их внутримышечной имплантации лабораторным животным.

Исследования *in vitro* функциональной эффективности тканеспецифических матриксов из децеллюляризованной ткани печени и суставного хряща проводили относительно способности матриксов поддерживать адгезию, жизнеспособность и специфическую активность клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 и процессы адгезии, пролиферации и хондрогенной дифференцировки мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека соответственно.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Оптимальные способы и режимы децеллюляризации зависят от видовой специфичности и структуры исходной ткани.
2. Разработанные лабораторные регламенты децеллюляризации ткани печени и суставного хряща свиньи обеспечивают наименьшие изменения в микроархитектонике и концентрации гликозаминогликанов, а также минимальное количество ДНК в децеллюляризованных образцах по сравнению с исходной тканью.
3. Биосовместимые свойства полученных тканеспецифических матриксов из децеллюляризованной ткани печени и суставного хряща свиньи отвечают критериям биологической безопасности *in vitro* и *in vivo*.
4. Тканеспецифический матрикс из децеллюляризованной ткани печени свиньи поддерживает адгезию, жизнеспособность и специфическую активность клеточной культуры HepG2.
5. Тканеспецифический матрикс из децеллюляризованного суставного хряща свиньи поддерживает адгезию, пролиферацию и хондрогенную дифференцировку клеточной культуры мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека.

Степень достоверности

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечивается четкой постановкой задач, достаточным объемом исследования, применением современных лабораторных методов исследования, корректной статистической обработкой данных и всесторонней оценкой полученных результатов в сравнении с данными научной литературы.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практику отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в образовательный процесс кафедры трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликованы 23 научные работы, в том числе 9 статей: 6 из них – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Центра, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 3 статьи – в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах данных; 14 публикаций – в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций. Получен патент РФ на изобретение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Объекты исследования

Для получения тканеспецифических матриксов и проведения дальнейших исследований были использованы следующие объекты; печень половозрелых крыс-самцов породы Wistar (вес 180–220 г), полученных из питомника лабораторных животных (ООО «Кролинфо»); печень и суставной хрящ свиньи (вес 120 кг), полученные на бойне ООО «АПК «ПРОМАГРО» после забоя здоровых животных.

Мелкодисперсные фрагменты печени (МФП) получали измельчением образцов печени вручную с помощью ножниц (размер не более $2 \times 2 \times 2$ мм). Суставной хрящ нарезами фрагментами размером не более $5 \times 5 \times 5$ мм, замораживали при -20°C и хранили при этой температуре до момента начала криопомола.

Все манипуляции с животными проводили с соблюдением биоэтических принципов, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS N 123 и в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными Приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н.

Метод криопомола для получения микрочастиц свиного хряща

Для получения микрочастиц суставного хряща (МСХ) требуемого диапазона размеров применяли метод криопомола с использованием криомельницы CryoMill (RetchGmbH, Германия), которая позволяет проводить помол в условиях непрерывного охлаждения жидким азотом. Микрочастицы хряща получали в криомельнице при частоте помола 25 Гц в течение 3 минут. Фракции частиц требуемого размера в диапазоне 100–250 мкм выделяли просеиванием помола через набор сит с соответствующим размером пор.

Методы децеллюляризации

Для сравнительного анализа эффективности децеллюляризации ткани печени и суставного хряща были выбраны следующие способы, модифицированные в процессе разработки оптимальных протоколов децеллюляризации:

- обработка растворами поверхностно-активных веществ (ПАВ) [Онищенко Н.А. и др., 2016];
- низкая и высокая ионная сила децеллюляризирующего раствора (осмотический шок) [Gardin C. et al., 2015];
- циклическое замораживание/оттаивание [Utomo L. et al., 2015];
- обработка в среде сверхкритического CO₂ (ск-CO₂) [Antons J. et al., 2018];
- обработка ДНКазой [Verstegen M.M.A. et al., 2017].

Обработка растворами поверхностно-активных веществ

Для выбора наиболее эффективного способа децеллюляризации МФП и МСХ были опробованы различные варианты децеллюляризации. Исходя из данных литературы [Онищенко Н.А. и др., 2016], инкубацию МФП и МСХ проводили в трех сменах фосфатно-солевого буфера (PBS), содержащего 0,1% додецилсульфат натрия (SDS) и повышающуюся концентрацию Triton X-100:

1. Раствор, содержащий 1% Triton X-100 + 0,1% SDS.
2. Раствор, содержащий 2% Triton X-100 + 0,1% SDS.
3. Раствор, содержащий 3% Triton X-100 + 0,1% SDS.

В каждом из трех растворов образцы обрабатывали в течение суток при периодическом перемешивании (3 раза в сутки) на магнитной мешалке (IKA, Германия) при различных скоростях перемешивания: 200, 300 и 400 об./мин. Время децеллюляризации для обоих видов ткани составляло 72 часа.

Для МФП дополнительно исследовали более щадящий режим децеллюляризации с применением ПАВ, но без контакта образца с перемешивающим элементом – с помощью ротационных систем INTEGRA (Швейцария) и BioSan (Латвия). В предварительных экспериментах были найдены минимально влияющие на структуру образцов скорости перемешивания – 2 и 5 об./мин.

Низкая и высокая ионная сила децеллюляризирующего раствора (осмотический шок) в сочетании с ПАВ

Высокая и низкая ионная сила рабочих растворов

МФП при комнатной температуре обрабатывали последовательно раствором 0,1% SDS в дистиллированной воде, раствором 1N NaCl + 0,1% SDS (раствор с высокой ионной силой) и раствором PBS + 0,1% SDS (раствор с низкой ионной силой) в течение выбранного интервала времени.

Низкая ионная сила рабочего раствора

МФП при комнатной температуре обрабатывали последовательно раствором 0,1% SDS в дистиллированной воде и раствором PBS + 0,1% SDS (раствор с низкой ионной силой) в течение выбранного интервала времени.

В каждом из растворов образцы обрабатывали при периодическом перемешивании (3 раза в сутки) на магнитной мешалке. Дополнительно исследовали режим децеллюляризации МФП с применением метода осмотического шока и ПАВ, но без контакта образца с перемешивающим элементом – с помощью ротационных систем при скоростях перемешивания 2 и 5 об./мин.

Циклическое замораживание/оттаивание

Микрочастицы суставного хряща свиньи помещали в криопробирки и подвергали сухой заморозке в сосуде Дьюара при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение одного часа, после чего производили оттаивание в термостате при $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа. При необходимости цикл замораживание/оттаивание повторяли выбранное количество раз.

Обработка в среде сверхкритического CO_2

Для повышения эффективности децеллюляризации образцы хрящевой ткани свиньи дополнительно обрабатывались в атмосфере ск- CO_2 в ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова» РАН на установке Spe-edTM SFE (Applied Separations, США) при давлении 300 Бар, температуре $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$, скорости потока ск- CO_2 $2,5 \pm 0,5$ мл/мин в течение 8–24 часов. Этанол в концентрации 10% был использован в качестве модификатора полярности.

Обработка ДНКазой

После децеллюляризации образцов с использованием ПАВ для достижения полноты удаления клеточных компонентов, измеряемой по остаточному количеству ДНК, образцы обрабатывали в растворе ДНКазы I типа (New England Biolabs Inc., США). Образцы объемом 0,5 мл помещали в 1 мл буферного раствора, содержащего 50 Е/мл ДНКазы I и инкубировали в течение 48 часов при температуре $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Метод лазерного дифракционного анализа

для определения размеров микрочастиц суставного хряща

Распределение микрочастиц хряща по размерам в суспензии определяли с помощью лазерного дифракционного анализатора SALD-7101 (Shimadzu, Япония). Длина волны лазера была равна 375 нм. В качестве дисперсионной среды был использован глицерин. Измерение проводили для трех репрезентативных образцов.

Методы гистологического анализа образцов

Образцы фиксировали в 10% растворе забуференного формалина в течение 24 часов, обезживали и заливали в парафин. Срезы депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Массона и альциановым синим. Анализ и фотосъемку полученных препаратов проводили, используя микроскоп Nikon Eclipse Ti (Nikon, Япония), оснащенный цифровой фотокамерой.

Метод флуоресцентной микроскопии с использованием красителя DAPI для оценки полноты удаления ДНК

Степень децеллюляризации микрочастиц суставного хряща свиньи оценивали с использованием флуоресцентного красителя DAPI. Проводили окрашивание образцов в 24-луночной планшете раствором специфического для двухцепочечной ДНК флуоресцентного красителя DAPI в концентрации 1 мкг/мл (6 мг хряща на 1 лунку). Длина волны возбуждения красителя составляет 358 нм, длина волны максимума излучения – 461 нм.

В каждом образце с использованием флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ti (Nikon, Япония) определяли количество микрочастиц матрикса (рис. 1):

- недецеллюляризованных;
- частично децеллюляризованных, содержащих отдельные клетки;
- полностью децеллюляризованных.

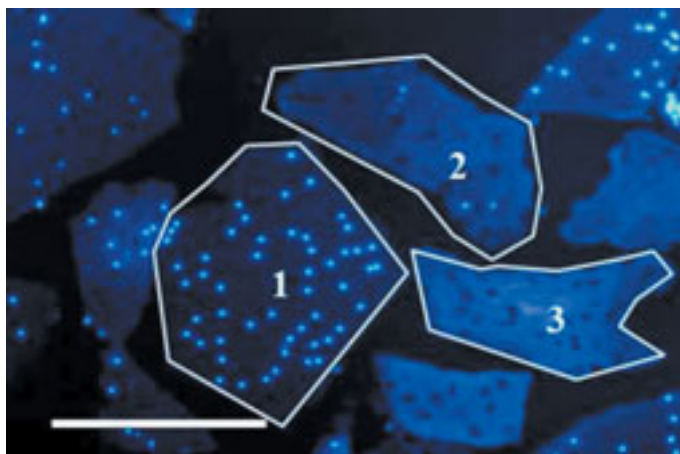


Рис. 1. Микрочастицы хряща свиньи после криопомола. Окрашивание DAPI: 1 – недецеллюляризованные микрочастицы; 2 – частично децеллюляризованные микрочастицы; 3 – полностью децеллюляризованные микрочастицы. ×200

Биохимическое исследование тканеспецифических матриксов.

Метод определения количества ДНК

Выделение ДНК проводили с использованием набора DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя.

Для количественного определения двухцепочечной ДНК использовали флуоресцентный краситель Quant-iT™ PicoGreen (Invitrogen, США) в соответствии с инструкцией производителя. Образцы активировались излучением с длиной волны 480 нм, и полученная термоэлектронная эмиссия анализировалась на планшетном спектрофлуориметре Tecan Spark 10M (Tecan Trading AG, Швейцария) при длине волны 520 нм.

Метод определения количества гликозаминогликанов

Для количественного определения гликозаминогликанов (ГАГ) образцы предварительно лиофилизовали. После лиофилизации образцы массой 30 мг ($n = 3$) инкубировали в растворе папаина (Sigma-Aldrich, США) при +65 °C в течение 12 часов.

Для количественного анализа ГАГ был использован катионный краситель 1,9-диметилметиленовый синий (Sigma-Aldrich, США), специфически связывающийся с сульфатированными ГАГ. Окрашивание проводили в 96-луночной планшете: в лунку добавляли 20 мкл лизата и 200 мкл рабочего раствора красителя с последующим определением на спектрофлуориметре Tecan Spark 10M (Tecan Trading AG, Швейцария) при длине волны 525 нм.

Метод определения in vitro цитотоксичности

Цитотоксичность образцов исследовали в соответствии с ГОСТ ISO 10993-5-2011. Применяли метод прямого контакта и метод вытяжек из образцов на культуре МСК ЖТч, полученной из фрагмента подкожной жировой клетчатки от здорового донора в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова».

Через 24 часа инкубации оценивали морфологию и лизис клеток. Для выявления возможного пролонгированного цитотоксического эффекта наблюдение за ростом клеток вели вплоть до 3 суток. Отрицательным контролем служила культуральная среда для клеток МСК ЖТч, содержащая сыворотку, положительным – стандартный раствор цинка в азотной кислоте. Анализ и фотосъемку образцов проводили, используя световой микроскоп Nikon Eclipse Ti (Nikon, Япония). МСК ЖТч окрашивали по Гимзе.

Метод испытаний in vitro гемолитической активности

Гемолитическую активность образцов определяли совместно с АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий» в соответствии с ГОСТ ISO 10993-4-2011 непрямым методом, а именно по гемолизу, индуцированному веществами, экстрагируемыми из тестируемого объекта.

К исследуемым образцам добавляли 0,9% раствор NaCl в соотношении масса образца (г): экстрагирующая жидкость (мл) = 1 : 30. В качестве отрицательного контроля использовали 0,9% раствор NaCl, в качестве положительного контроля – дистиллированную воду.

Количественным критерием метода служит относительная величина гемолиза (а) в %. Образец признается гемосовместимым, если $a_r < 2,0\%$.

Имплантационный тест для оценки in vivo биологической безопасности тканеспецифических матриксов

Исследование биологической безопасности тканеспецифических децеллюляризованных матриксов из печени и хряща и проверка их соответствия требованиям, предъявляемым к медицинским изделиям по ГОСТ ISO 10993-6-2011, были проведены совместно с АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий». Для оценки местного действия матриксы имплантировали половозрелым аутбредным крысам (самкам) в мышечную ткань. Контролем служили ложнооперированные крысы, которым проводили операцию, не закладывая имплантаты.

Через 21 день, 2, 3 и 6 месяцев животных выводили из эксперимента и оценивали биологическую реакцию тканей с помощью макроскопического и гистологического исследований.

Для гистологического исследования забирали место имплантации (участок мышечной ткани) вместе с достаточным количеством окружающей его ткани для оценки местной тканевой реакции. Вырезанные участки тканей фиксировали в 10% растворе формалина с последующей заливкой в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические препараты исследовали методом световой микроскопии с помощью лабораторного микроскопа LeicaDM 1000 (Leica Microsystems CSC GmbH, Германия).

Исследование функциональной эффективности тканеспецифических матриксов на культурах клеток

Специфическая эффективность тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной ткани *in vitro* заключается в поддержании адгезии, пролиферации и функциональной активности тканеспецифических клеток.

Для определения функциональной активности КИК хряща *in vitro* исследовали способность микрочастиц матрикса и клеточной компоненты соединяться и образовывать тканевой эквивалент, содержащий ГАГ и коллаген. В КИК хряща использовали МСК ЖТч, способные к дифференцировке в хондрогенном направлении. Источником МСК ЖТч была подкожная жировая клетчатка здорового донора, полученная при информационном добровольном согласии.

Специфическая эффективность КИК печени *in vitro* оценивалась по способности матрикса и клеточной компоненты образовывать единый

конгломерат и способности клеток вырабатывать мочевины. Концентрацию мочевины в образцах культуральной среды, полученной при культивировании КИК печени, определяли на биохимическом анализаторе Konelab Prime 60i (Thermo Fisher Scientific, Финляндия). КИК печени включала клеточную линию гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2, полученную из лабораторной коллекции клеточных культур отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова».

Морфологию образцов исследовали с использованием гистологических методов окрашивания.

Методы статистического анализа полученных данных

Обработку данных проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel. Находили средние значения, вариант и среднеквадратичные отклонения. Достоверность различий определяли, используя критерий t Стьюдента и критерий Уилкоксона–Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Децеллюляризация фрагментов печени крысы

Для начала, основываясь на литературных данных [Онищенко Н.А. и др., 2016], был проведен эксперимент, в ходе которого контролировали эффективность децеллюляризации МФП крысы в зависимости от выбора режима перемешивания на магнитной мешалке в растворах SDS и Triton X-100. Сравнивали различные скорости перемешивания: 200, 300 и 400 об./мин. Выяснилось, что применение для децеллюляризации МФП крысы растворов ПАВ при перемешивании на магнитной мешалке не приводит к полному удалению клеток и клеточного детрита из ткани печени и сохранению микроструктуры ВКМ. При всех исследованных скоростях перемешивания в гистологических препаратах МФП крысы наблюдаются отдельные сохраненные целые клетки и зерна клеточного детрита, а также разрушение структуры ВКМ. Это говорит о том, что для МФП крысы необходимо подобрать такой режим децеллюляризации, который будет менее травматичным для микроструктуры ВКМ, но при этом достаточным для разрушения клеток и удаления клеточного детрита.

Нами было опробовано перемешивание образцов в растворах ПАВ с применением ротационной системы при различных скоростях перемешивания (2 и 5 об./мин). Ротационная система позволяет проводить процесс децеллюляризации более бережно по отношению к образцам, так как отсутствует непосредственный контакт образца с перемешивающим магнитным элементом. Применение ротационной системы и обработки ПАВ для децеллюляризации МФП крысы показывает лучший результат

по сравнению с применением перемешивания на магнитной мешалке в растворах ПАВ. Однако в препаратах все равно видны разрушения структуры матрикса, а при скорости 5 об./мин различаются целые клетки и клеточный детрит.

Далее мы попробовали снизить степень разрушения структуры ВКМ, применив для децеллюляризации МФП крысы метод осмотического шока – обработку образцов рабочими растворами с высокой и низкой ионной силой с добавлением 0,1% SDS в течение 24 часов. От предыдущих методов этот отличается отсутствием в составе рабочих растворов неионного ПАВ Triton X-100 и снижением времени децеллюляризации с 72 до 24 часов. Данный способ был отработан с применением и магнитной мешалки со скоростью 200 об./мин, и ротационной системы (2 и 5 об./мин). Децеллюляризация МФП крысы рабочим раствором с низкой ионной силой + 0,1% SDS привела к хорошим результатам при перемешивании на магнитной мешалке (скорость 200 об./мин) и на ротационной системе со скоростью 5 об./мин.

По результатам гистологических исследований, содержащих в себе анализ 9 способов децеллюляризации, были выбраны два режима децеллюляризации МФП крысы, оказавшиеся подходящими по эффективности удаления клеток и клеточного детрита, а также по сохранению структуры матрикса.

Первый режим – перемешивание на магнитной мешалке при скорости 200 об./мин при низкой ионной силе рабочего раствора + 0,1% SDS.

Второй режим – перемешивание на ротационной системе при скорости 5 об./мин при низкой ионной силе рабочего раствора + 0,1% SDS.

Для дальнейшей разработки оптимального протокола децеллюляризации печени крысы был проведен количественный анализ содержания ДНК в исходной и децеллюляризованных образцах тканей по двум найденным режимам.

В исходной ткани печени крысы ДНК содержалась в количестве $565,4 \pm 8,6$ нг/мкг ткани. Результаты количественного определения ДНК в образцах децеллюляризованных МФП крысы показали, что после обработки исходной ткани в режиме, включающем перемешивание на магнитной мешалке при скорости 200 об./мин и осмотический шок (низкая ионная сила) + 0,1% SDS, количество ДНК в децеллюляризованной ткани снизилось до $4,5 \pm 1,1$ нг/мкг ткани. При режиме, включающем перемешивание на ротационной системе при скорости 5 об./мин и низкой ионной силе рабочего раствора + 0,1% SDS, количество ДНК снизилось до $5,6 \pm 0,9$ нг/мкг ткани. Количество остаточного ДНК соответствует 0,9 и 0,8% от количества ДНК в исходной ткани печени крысы, что соответствует критерию полноты удаления клеток [Zhang L. et al., 2017]. Таким образом, оба режима можно признать достаточными для удаления ДНК из тканей печени крысы. Дальнейшие исследования направлены на анализ сохранности основных структурных компонентов ВКМ – ГАГ.

В исходной ткани печени крысы количество ГАГ составляет $0,18 \pm 0,02$ мкг/мг ткани. Такое количество объясняется высоким содержанием клеток в исходной ткани по сравнению с децеллюляризованной тканью печени. При режиме децеллюляризации МФП крысы, включающем перемешивание на магнитной мешалке при скорости 200 об./мин и обработку рабочим раствором с низкой ионной силой + 0,1% SDS, количество ГАГ составляет $1,01 \pm 0,21$ мкг/мг ткани. Перемешивание образцов на ротационной системе при скорости 5 об./мин в рабочем растворе с низкой ионной силой + 0,1% SDS в меньшей степени влияет на концентрацию ГАГ в децеллюляризованной ткани, равную $3,13 \pm 0,24$ мкг/мг ткани. Из полученных данных можно сделать вывод о том, что режим децеллюляризации на ротационной системе со скоростью 5 об./мин с низкой ионной силой рабочего раствора + 0,1% SDS более щадяще влияет на структуру матрикса и содержание в нем ГАГ, чем режим с магнитной мешалкой.

Децеллюляризация фрагментов печени свиньи

Матрикса, созданные на основе децеллюляризованных тканей и органов свиньи, уже успешно используются в клинической практике [Pina S. et al., 2019]. Кроме того, децеллюляризация позволяет снизить иммуногенность за счет снижения количества ДНК и эпитопов галактозы – основных факторов, вызывающих иммунную реакцию организма человека на ткани свиньи [Wu L.C. et al., 2017].

Для изучения влияния видовой специфичности исходной ткани печени на выбор подходящего режима децеллюляризации и его воздействия на структуру тканеспецифического матрикса были применены режимы и способы децеллюляризации МФП свиньи (рис. 2, А, Б), аналогичные режимам и способам децеллюляризации МФП крысы.

Из данных гистологического анализа следует, что наилучшие результаты с точки зрения сохранности микроstructures матрикса, полноты удаления клеток и клеточного детрита были получены при децеллюляризации МФП свиньи в растворах ПАВ на магнитной мешалке при 300 об./мин (рис. 2, В, Г). Заметим, что для печени крысы децеллюляризация ПАВ как на магнитной мешалке, так и на ротационной системе дала неудовлетворительные результаты.

Подходящим способом децеллюляризации МФП свиньи оказался также способ с применением растворов с низкой ионной силой + 0,1% SDS при перемешивании на ротационной системе со скоростью 5 об./мин (рис. 2, Д, Е). Заметим, что такой способ также подошел и для децеллюляризации МФП крысы.

Таким образом, было выделено два режима децеллюляризации печени свиньи, показывающие хорошие результаты с точки зрения удаления клеток с клеточным детритом и сохранения структуры матрикса.

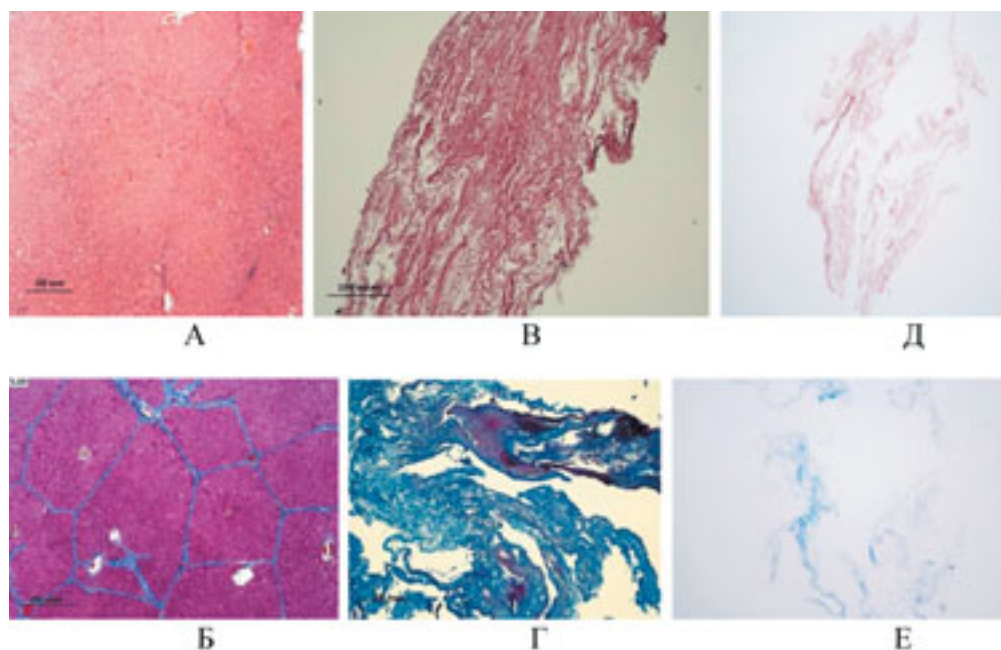


Рис. 2. Исходные и децеллюляризованные мелкодисперсные фрагменты печени свиньи: А, Б – исходные фрагменты, $\times 40$; В, Г – магнитная мешалка, 200 об./мин, $\times 200$; Д, Е – ротационная система, 5 об./мин, $\times 100$ (А, В, Д – окрашивание гематоксилином и эозином; Б, Г, Е – окрашивание по методу Массона)

Первый режим – перемешивание на магнитной мешалке при скорости 300 об./мин в растворах ПАВ.

Второй режим – перемешивание на ротационной системе при скорости 5 об./мин + осмотический шок (низкая ионная сила) + 0,1% SDS.

Однако по результатам определения остаточного количества ДНК выяснилось, что остаточное количество ДНК в децеллюляризованных МФП свиньи при использовании магнитной мешалки при скорости 300 об./мин составляет 70% от количества ДНК в исходной ткани при рекомендуемом не более 10% [Zhang L., 2017]. В связи с этим в данный протокол децеллюляризации после обработки ПАВ был введен дополнительный этап, включающий инкубацию фрагментов печени свиньи в растворе ДНКазы I. Обработка ДНКазой позволила снизить остаточное количество ДНК в децеллюляризованном образце до 0,7%, что составляет $10,3 \pm 1,5$ нг/мг ткани.

Второй режим децеллюляризации, показавший хорошие результаты по данным гистологического анализа, включающий применение осмотического шока (низкой ионной силы + 0,1% SDS) в совокупности с ротационной системой со скоростью 5 об./мин, показал снижение количества ДНК до 1,5% от ее количества в исходной ткани ($23,7 \pm 1,4$ нг/мг ткани).

Таким образом, оба метода децеллюляризации МФП свиньи, выбранных по результатам гистологических исследований, показали хорошие результаты по содержанию остаточного количества ДНК. Дальнейшее уточнение протокола децеллюляризации было сделано по количеству сохраненных ГАГ в составе ВКМ образцов.

Количество ГАГ в исходных образцах тканей печени свиньи составляет $0,59 \pm 0,03$ мкг/мг ткани. После децеллюляризации ткани, включающей обработку растворами ПАВ на магнитной мешалке со скоростью 300 об./мин и обработку в растворе ДНКазы, содержание ГАГ составляет $3,03 \pm 0,24$ мкг/мг ткани, а после децеллюляризации, состоящей из обработки образцов растворами ПАВ на ротационной системе со скоростью 5 об./мин в совокупности с низкой ионной силой + 0,1% SDS – $9,23 \pm 1,03$ мкг/мг ткани.

Соответственно, второй режим обработки ткани печени свиньи (перемешивание на ротационной системе со скоростью 5 об./мин в растворе с низкой ионной силой + 0,1% SDS) является оптимальным для сохранения ГАГ в децеллюляризованных образцах МФП свиньи.

Из полученных данных следует, что при разработке протокола децеллюляризации необходимо учитывать видовую принадлежность печени. Как оказалось, удовлетворительных критериев децеллюляризации МФП крысы удалось достичь при применении рабочего раствора с низкой ионной силой в течение 24 часов. При этом применение раствора с низкой ионной силой + 0,1% SDS для децеллюляризации МФП свиньи ведет к сохранению чуть большего количества ДНК, чем в МФП крысы, однако и этого количества достаточно для признания этого метода удовлетворительным для удаления клеточного материала. Для снижения количества остаточного ДНК в МФП свиньи необходимо применять более длительный способ децеллюляризации, заключающийся в применении ПАВ на магнитной мешалке в течение 72 часов и затем инкубацию в растворе ДНКазы. Это говорит о различии в видовой специфике строения ткани печени, что обуславливает необходимость разработки индивидуальных протоколов децеллюляризации для каждой ткани печени. Это подтверждает и изменение в количестве ГАГ после процесса децеллюляризации. Ткань печени крысы подвержена большему изменению содержания ГАГ, чем ткань печени свиньи.

Децеллюляризация микрочастиц суставного хряща свиньи

Были отработаны режимы получения МСХ свиньи методом криопомола при температуре жидкого азота с выделением фракции 100–250 мкм. Помол предварительно измельченных вручную фрагментов хряща производили на криомельнице жидким азотом. Для наших целей был подобран следующий режим помола: 1 цикл длительностью 3 минуты при частоте 25 Гц.

Был проведен анализ количества децеллюляризованных и недецеллюляризованных фрагментов МСХ в образцах, полученных при комбинации разного количества циклов замораживания/оттаивания с обработкой растворами ПАВ. Из полученных результатов следует, что комбинированный метод децеллюляризации хряща свиньи, включающий 10 циклов замораживания/оттаивания с последующей обработкой ПАВ приводит к снижению количества недецеллюляризованных частиц в 7 раз и возрастанию доли децеллюляризованных фрагментов в 6,8 раза по сравнению с действием ПАВ в отдельности. Однако образующиеся при замораживании кристаллы льда не только разрушают клеточные мембраны и снижают количество недецеллюляризованных частиц в образце, но и разрушают естественную структуру ВКМ. Поэтому необходимо снизить количество циклов замораживания/оттаивания до 3 циклов и добавить к данному методу дополнительные этапы обработки МСХ растворами ПАВ и ДНКазой.

Было исследовано влияние обработки в среде ск-СО₂ в различных режимах на эффективность децеллюляризации микрочастиц хряща, после обработки растворами ПАВ. Эффективность децеллюляризации следует признать недостаточной, чтобы рекомендовать комбинацию из обработки ск-СО₂ и ПАВ в качестве метода комплексной обработки хрящевой ткани с целью получения децеллюляризованного тканеспецифического матрикса. Для достижения необходимой полноты децеллюляризации нами предложено ввести дополнительный этап обработки микрочастиц хряща, заключающийся в обработке его раствором ДНКазы I после обработки растворами ПАВ и перед обработкой в среде ск-СО₂ + этанол в течение 8 часов.

Окрашенные гематоксилином и эозином гистологические препараты дают наглядную картину состояния нативного суставного хряща свиньи (рис. 3, А, Б). По результатам гистологических исследований были выбраны два режима децеллюляризации тканей суставного хряща свиньи, удовлетворяющих по полноте удаления клеток и клеточного детрита и сохранению структуры ВКМ.

Первый режим – 3 цикла замораживания/оттаивания + обработка ПАВ в комбинации с перемешиванием на магнитной мешалке + ДНКазы (рис. 3, В, Г). Применение этого режима позволило снизить количество ДНК в децеллюляризованных микрочастицах хряща до $9,1 \pm 1,1$ нг/мг ткани, против количества в нативных микрочастицах $366,9 \pm 53,0$ нг/мг ткани). Снижение количества ДНК до 2,5% от исходной ткани свидетельствует о хорошей степени децеллюляризации и, соответственно, низкой иммуногенности полученного матрикса.

Второй режим – обработка ПАВ в комбинации с перемешиванием на магнитной мешалке + ДНКазы + обработка в среде ск-СО₂ с добавлением этанола в течение 8 часов (рис. 3, Д, Е). Применение данного режима привело к снижению количества ДНК в децеллюляризованных микрочастицах свиного хряща до $18 \pm 1,3$ нг/мг ткани (4,9% от количества в исходной ткани).

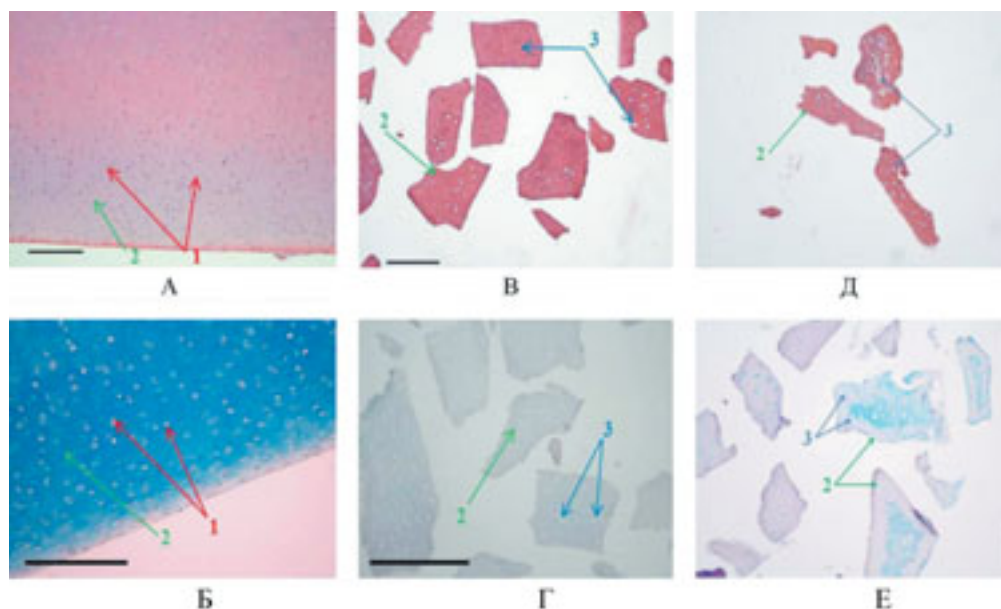


Рис. 3. Исходные и децеллюляризованные микрочастицы суставного хряща свиньи: А, Б – исходные частицы хряща; В, Г – обработка 3 циклами замораживания/оттаивания + ПАВ + ДНКазой; Д, Е – обработка ПАВ + ДНКазой + ск-СО₂ с добавлением этанола в течение 8 часов (А, В, Д – окрашивание гематоксилином и эозином; Б, Г, Е – окрашивание по методу Массона. 1 – целые клетки; 2 – ВКМ; 3 – пустые лакуны без клеток). ×100

Дальнейшие исследования направлены на анализ сохранности основного структурного компонента ВКМ МСХ – ГАГ.

По результатам определения ГАГ в исходных и децеллюляризованных тканях суставного хряща видно, что в исходной хрящевой ткани количество ГАГ составляет $153,6 \pm 22$ мкг/мг, при обработке 3 циклами замораживания/оттаивания + растворами ПАВ + ДНКазой количество ГАГ составляет $7,7 \pm 0,8$ мкг/мг ткани. Очевидно, циклы замораживания/оттаивания оказывают негативное влияние на содержание ГАГ в матриксе. При обработке хряща последовательно растворами ПАВ, обработкой в среде ск-СО₂ и обработкой раствором ДНКазы, количество ГАГ составляет $33,9 \pm 6,4$ мкг/мг ткани.

По количеству содержания ГАГ в децеллюляризованной ткани можно признать режим децеллюляризации, включающий обработку ПАВ, обработку в среде ск-СО₂ и обработку раствором ДНКазы наиболее оптимальным с точки зрения сохранения ГАГ в составе ВКМ.

После проведения гистологических и биохимических исследований образцов децеллюляризованных тканей суставного хряща свиньи опти-

мальным режимом децеллюляризации признан режим, включающий последовательную обработку хряща в растворах ПАВ, в среде ск-СО₂ и в растворе ДНКазы I.

Таким образом, беря во внимание полученные результаты по децеллюляризации печени крысы, печени свиньи и суставного хряща свиньи, можно сказать, что для достижения полной децеллюляризации для более плотной структуры суставного хряща по сравнению с тканью печени требуются более агрессивные методы децеллюляризации. Так, в протокол децеллюляризации суставного хряща был включен метод резкой смены температуры (циклы замораживания/оттаивания), который за счет образования кристаллов льда разрушает клеточную мембрану. Однако применение циклов замораживания/оттаивания ведет к большей потере ГАГ, чем метод с применением обработки в среде ск-СО₂. Заметим, что из-за высокой плотности хряща обработку его в среде ск-СО₂ возможно провести только после предварительной обработки МСХ растворами ПАВ и ДНКазы. Учитывая, что оба метода децеллюляризации МСХ позволяют эффективно снизить процент остаточного количества ДНК, не выходя за границу рекомендованных 10% [Zhang L., 2017], следует признать оптимальным тот режим, который оказывает минимальное воздействие на содержание ГАГ в децеллюляризованных МСХ. В данном случае таким режимом является режим, включающий последовательную обработку МСХ в растворах ПАВ, в среде ск-СО₂ и в растворе ДНКазы I.

В то же время достичь критерия эффективной децеллюляризации по остаточному количеству ДНК в МФП позволяют режимы, сочетающие в себе меньшее количество методов. Кроме того, для этого требуется меньше времени. Так, оптимальный режим децеллюляризации МСХ (ПАВ (магнитная мешалка) + ДНКазы + ск-СО₂) позволяют достичь эффективной степени децеллюляризации за 7 дней. А для эффективной децеллюляризации МФП свиньи в выбранном режиме (низкая ионная сила (ротационная система 5 об./мин + 0,1% SDS)) требуется 24 часа.

Одновременно для сохранности структуры печени необходимо было подобрать способы и режимы децеллюляризации, позволяющие одновременно удалить значительное количество ДНК из ткани печени и сократить до минимума повреждение структуры ВКМ. Так, перемешивание на ротационной системе со скоростью 5 об./мин в растворе с низкой ионной силой + 0,1% SDS является оптимальным для сохранения ГАГ в децеллюляризованных образцах МФП свиньи.

При разработке КИК печени и суставного хряща для клинического применения планируется использовать тканеспецифические матрицы, изготовленные на основе децеллюляризованных тканей свиньи. В связи с этим исследования биологической безопасности и функциональной эффективности были проведены только для тканеспецифических матриц на основе децеллюляризованных тканей печени свиньи и суставного хряща свиньи.

Цитотоксичность in vitro

Исследование цитотоксичности методом прямого контакта на клеточной культуре МСК ЖТч не обнаружило проявлений цитотоксического эффекта тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованных тканей печени свиньи и суставного хряща свиньи на протяжении времени исследования (24 часа) как методом прямого контакта, так и методом вытяжек из матрикса. Пролонгированного цитотоксического эффекта также не обнаружили вплоть до окончания эксперимента на 3-и сутки. На основании полученных данных может быть сделан вывод об отсутствии цитотоксических свойств у тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованной ткани печени свиньи и тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованного суставного хряща свиньи.

Гемолитическая активность in vitro

Результаты тестирования биосовместимых свойств децеллюляризованных матриксов печени свиньи, а также хрящевой ткани свиньи показали, что согласно критерию теста на гемолиз эритроцитов, индуцированный контактом с чужеродной поверхностью, все они соответствуют требованиям ГОСТ Р ИСО 10993-1-2011, предъявляемым к биосовместимым материалам. Таким образом, исследованные образцы тканеспецифических матриксов из децеллюляризованных тканей печени свиньи и суставного хряща свиньи удовлетворяют критерию гемосовместимости по тесту на гемолиз.

Биологическая безопасность in vivo (имплантационный тест)

Ранее показанное отсутствие цитотоксичности и гемолитического действия тканеспецифических матриксов *in vitro* дало нам основание перейти к исследованию биологической безопасности тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных тканей печени и суставного хряща свиньи *in vivo*.

Отсутствие реакции мышечной ткани при имплантации в течение 6 месяцев указывает на соответствие тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных тканей печени и хряща свиньи требованиям, предъявляемым к медицинским изделиям по ГОСТ ISO 10993-6-2011 «Исследования местного действия после имплантации».

Функциональная эффективность

При проведении исследования функциональной эффективности тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованной ткани печени свиньи было показано, что преимущественный рост эпителиоподобных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением наблюдается на поверхности матрикса к 3-м суткам культивирования (рис. 4).

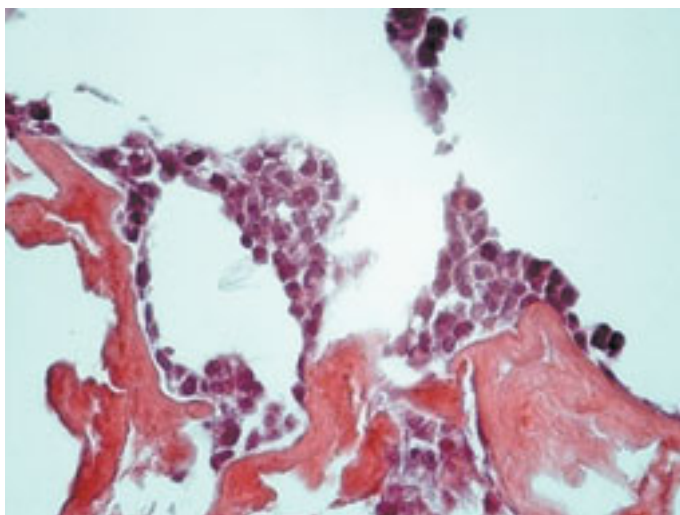


Рис. 4. Морфология клеток HepG2 при культивировании на тканеспецифическом матриксе на основе децеллюляризованной ткани печени свиньи на 3-и сутки культивирования. Окрашивание гематоксилином и эозином. х400

При этом клетки объединялись в многочисленные группы. Часть клеток формировала мелкие скопления в толще носителя. К 6-м суткам наблюдали значительное увеличение клеточной массы, что было связано с активной клеточной пролиферацией. Метаболическую активность клеток печени определяли по наличию мочевины в культуральной среде. Было показано, что через 3 суток биохимический анализ проб не выявил в образцах мочевины на уровне, превышающем предел обнаружения 1,1 ммоль/л. Однако к 7-м суткам содержание мочевины в культуральной среде составило $1,2 \pm 0,1$ ммоль/л, что свидетельствует о метаболической активности клеток в составе полученных биоинженерных конструкций. Таким образом, было показано, что образцы тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованной ткани печени свиньи проявляют функциональную активность, подтвержденную распределением клеток в объеме матрикса и сохранением специфической метаболической активности.

При исследовании функциональной эффективности тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованной ткани суставного хряща свиньи *in vitro* на поверхности микрочастиц децеллюляризованного хряща МСК ЖТч пролиферировали, объединяя микрочастицы хряща в крупные агрегаты, и активно нарабатывали ВКМ (рис. 5, А). Причем крупные конгломераты не распадались на более мелкие к окончанию эксперимента. Клетки характеризовались фибробластоподобной формой. Внутри конгломератов формировались многослойные клеточные зоны. Однако в центре конгломератов на 28-е сутки культивирования в хондрогенной

среде определяли участки некроза клеток. Положительное окрашивание образцов альциановым синим свидетельствует о наработке ГАГ клетками, вступившими в дифференцировку в хондрогенном направлении (рис. 5, Б). Окрашивание ВКМ на коллаген было позитивным, причем насыщенность окрашивания возрастала с увеличением времени культивирования, что совпадало с тенденцией наработки ГАГ. К 28-м суткам коллаген наблюдали по всему объему ВКМ (рис. 5, В).

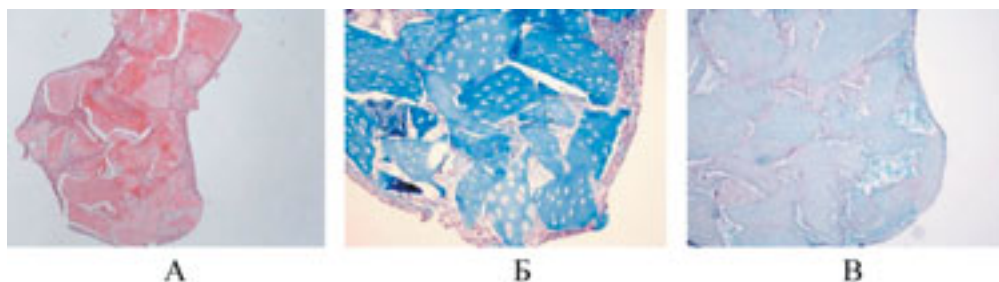


Рис. 5. Гистологическая картина на 28-е сутки культивирования МСК ЖТч на поверхности тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованной ткани суставного хряща свиньи:

А – окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 40$;

Б – окрашивание по методу Массона, $\times 100$;

В – окрашивание альциановым синим, $\times 100$

Таким образом, по результатам исследования функциональной эффективности тканеспецифического матрикса на основе децеллюляризованной ткани суставного хряща свиньи было продемонстрировано, что МСК ЖТч в составе КИК активно пролиферировали. В составе ВКМ, наработанного МСК ЖТч при культивировании в хондрогенной культуральной среде, были выявлены ГАГ и коллаген, что свидетельствует о высокой функциональной эффективности экспериментальных образцов.

Заключение

В ходе выполнения данной работы были разработаны режимы получения тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных тканей в зависимости от их типа и видовой специфичности. Для тканей печени крысы и свиньи, суставного хряща свиньи были подобраны оптимальные режимы, позволяющие при сохранении ГАГ в составе ВКМ удалять клетки и генный материал из тканей. Режимы децеллюляризации были выбраны после проведения гистологических (окрашивание срезов тканей гематоксилином и эозином, а также по методу Массона) и биохимических исследований образцов (определение содержания ДНК, ГАГ).

Для тканей печени крысы оптимальным режимом децеллюляризации является перемешивание на ротационной системе при скорости 5 об./мин совместно с воздействием низкой ионной силы.

Для тканей печени свиньи оптимальным режимом децеллюляризации является режим, включающий перемешивание на ротационной системе со скоростью 5 об./мин в совокупности с низкой ионной силой.

Для тканей суставного хряща свиньи оптимальным режимом децеллюляризации является режим, включающий последовательную обработку хряща в растворах ПАВ, в среде ск-СО₂ и в растворе ДНКазы I.

Образцы полученных тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных тканей печени и суставного хряща свиньи, как наиболее перспективные, на наш взгляд, были исследованы на соответствие требованиям биологической безопасности. Были проведены исследования на цитотоксичность *in vitro*, на определение величины гемолиза, индуцированного поверхностью тканеспецифических матриксов, и проведено изучение биологической безопасности тканеспецифических матриксов из децеллюляризованных тканей печени свиньи *in vivo*.

Также на основании проведенных исследований была подтверждена функциональная эффективность тканеспецифических матриксов из децеллюляризованных тканей печени и хряща свиньи *in vitro*. Это подтверждалось распределением клеток в объеме матрикса и сохранением активности клеточных культур.

Создание тканеспецифических матриксов на основе децеллюляризованных ксеногенных органов позволит в будущем перейти к использованию КИК для замещения функций поврежденных органов или стимуляции процессов их физиологической регенерации.

Вывод

1. Установлено, что при разработке протоколов децеллюляризации следует учитывать как видовую специфичность ткани, так и ее структуру. Показано, что для достижения полноты децеллюляризации плотной хрящевой ткани необходимо дополнительно использовать методы физической обработки.
2. Разработаны и экспериментально обоснованы лабораторные регламенты децеллюляризации ткани печени и суставного хряща свиньи, позволяющие получать тканеспецифический матрикс с наименьшим изменением концентрации гликозаминогликанов и сохранением структурных особенностей внеклеточного матрикса, содержащего минимальное количество ДНК.
3. В экспериментах *in vitro* (гемолитическая активность и цитотоксичность) и *in vivo* (имплантационный тест) доказана биологическая безопасность тканеспецифических матриксов, полученных из де-

целлюляризованной ткани печени свиньи и ткани суставного хряща свиньи.

4. При инкубации культуры НерG2 с тканеспецифическим матриксом из децеллюляризованной ткани печени свиньи клетки, адгезированные на поверхности и мигрирующие в объем матрикса, сохраняют жизнеспособность и проявляют специфическую метаболическую активность. К 7-м суткам содержание мочевины в культуральной среде составило $1,2 \pm 0,1$ ммоль/л.
5. При исследовании функциональной активности тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной ткани суставного хряща свиньи выявлена его способность эффективно поддерживать адгезию, пролиферацию и хондрогенную дифференцировку мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека.

Практические рекомендации

1. При выборе способа и режимов децеллюляризации, минимально влияющих на микроархитектонику и содержание основных компонентов внеклеточного матрикса исходной ткани, следует учитывать видовую специфичность и структуру исходной ткани.
2. Для повышения полноты децеллюляризации плотных тканей необходимо микронизировать исходную ткань до размеров 100–250 мкм.
3. Оптимальные размеры фрагментов тканей паренхиматозных органов, при которых достигается наибольшая степень децеллюляризации с сохранением микроархитектоники исходной ткани, составляют $2 \times 2 \times 2$ мм.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Sevastianov V.I. Application of supercritical fluids for complete decellularization of porcine cartilage / V.I. Sevastianov, E.A. Nemets, A.E. Lazhko, Y.B. Basok, L.A. Kirsanova, **A.D. Kirillova** // Journal of Physics: Conference Series. – 2019. – Vol. 1347. – P. 012081.
2. Basok Yu.B., **Kirillova A.D.**, Grigoryev A.M., Kuznetsova E.G., Kirsanova L.A., Nemets E.A. Creation of an injectable tissue-specific matrix from decellularized fragments of articular cartilage. Abstracts book. Sechenov International Biomedical Summit 2019, 20.05–21.05.2019, Moscow, Russia. – М.: Publishing house of Sechenov University, 2019. – P. 11–12.
3. Немец Е.А., Лажко А.Э., Басок Ю.Б., Кирсанова Л.А., **Кириллова А.Д.**, Севастьянов В.И. Сверхкритический CO₂ при децеллюляризации хрящевой ткани. Материалы X Научно-практической конференции с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации», 30 сентября – 6 октября 2019 г. – Ростов н/Д, 2019. – С. 45–47.

4. **Кириллова А.Д.** Создание мелкодисперсного тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща. XVI Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 1–4 октября 2019 г. / Сборник трудов. – М.: ИМЕТ РАН, 2019. – С. 190–192.
5. Басок Ю.Б., Немец Е.А., Кирсанова Л.А., Григорьев А.М., **Кириллова А.Д.**, Севастьянов В.И. Микродисперсный тканеспецифический матрикс для тканевой инженерии хряща. Материалы IV Национального конгресса «Трансплантация и донорство органов», 7–9 октября 2019 года, Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 5. – С. 164.
6. Басок Ю.Б., Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., **Кириллова А.Д.**, Севастьянов В.И. Создание тканеинженерной конструкции хрящевой ткани на основе микронизированного тканеспецифического децеллюляризованного матрикса суставного хряща свиньи. Материалы IV Национального конгресса по регенеративной медицине, 20–23 ноября 2019 года, Москва // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14. – № 5. – С. 36.
7. Басок Ю.Б. Получение микродисперсного тканеспецифического децеллюляризованного матрикса из суставного хряща свиньи / Ю.Б. Басок, **А.Д. Кириллова**, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, Е.А. Немец, В.И. Севастьянов // Перспективные материалы. – 2020. – № 5. – С. 51–60.
8. **Кириллова А.Д.** Создание тканеспецифического микродисперсного матрикса из децеллюляризованной печени свиньи / **А.Д. Кириллова**, Ю.Б. Басок, А.Э. Лажко, А.М. Григорьев, Л.А. Кирсанова, Е.А. Немец, В.И. Севастьянов // Физика и химия обработки материалов. – 2020. – № 4. – С. 41–50.
9. Немец Е.А. Особенности получения тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного хряща свиньи / Е.А. Немец, А.Э. Лажко, Ю.Б. Басок, Л.А. Кирсанова, **А.Д. Кириллова**, В.И. Севастьянов // Сверхкритические флюиды. Теория и практика. – 2020. – Т. 15. – № 2. – С. 3–13.
10. Nemets E. A. Preparation of tissue-specific matrix from decellularized porcine cartilage / E.A. Nemets, A.E. Lazhko, Yu.B. Basoka, L.A. Kirsanova, **A.D. Kirillova**, V.I. Sevastianov // Russian Journal of Physical Chemistry B. – 2020. – Vol. 14. – № 8. – P. 1245–1251.
11. Basok Yu.B. Fabrication of microdispersed tissue-specific decellularized matrix from porcine articular cartilage / Yu.B. Basok, **A.D. Kirillova**, A.M. Grigoryev, L.A. Kirsanova, E.A. Nemets, V.I. Sevastianov // Inorganic Materials: Applied Research. – 2020. – Vol. 11. – № 5. – P. 1153–1159.
12. Григорьев А.М. Экспериментальные подходы к созданию тканеспецифического матрикса для биоискусственной печени / А.М. Григорьев, Ю.Б. Басок, **А.Д. Кириллова**, Л.А. Кирсанова, Н.П. Шмерко, А.М. Суббот, Е.А. Немец, И.А. Милосердов, М.Ю. Шагидулин, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. Т. 22. – № 3. – С. 123–133.
13. Шагидулин М.Ю. Функциональная эффективность клеточно-инженерной конструкции печени на основе тканеспецифического матрикса (экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности) / М.Ю. Шагидулин, Н.А. Они-

- щенко, Ю.Б. Басок, А.М. Григорьев, **А.Д. Кириллова**, Е.А. Немец, Е.А. Волкова, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, В.И. Севастьянов, С.В. Готье // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 89–97.
14. Басок Ю.Б., **Кириллова А.Д.**, Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Севастьянов В.И. Децеллюляризованный суставной хрящ свиньи как матрикс для создания тканеинженерной конструкции. Материалы X Всероссийского съезда трансплантологов, 5–7 октября 2020 г., Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 131.
15. **Кириллова А.Д.**, Григорьев А.М., Басок Ю.Б., Кирсанова Л.А., Шмерко Н.П., Немец Е.А., Шагидулин М.Ю., Севастьянов В.И. Тканеспецифический децеллюляризованный матрикс для биоинженерной конструкции печени. Материалы X Всероссийского съезда трансплантологов, 5–7 октября 2020 г., Москва // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 142.
16. Басок Ю.Б., **Кириллова А.Д.**, Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Перова Н.В., Севастьянов В.И. Разработка подходов для стимуляции регенерации суставного хряща на основе использования коллагенсодержащих носителей и мезенхимальных стромальных клеток. IV Международный конгресс ассоциации ревмоортопедов: Тезисы докладов конгресса, Москва, 18–19 сентября 2020 года / Редколлегия: М.А. Макаров [и др.]. – М.: Научная книга, 2020. – С. 8–10.
17. Basok Yu.B., Grigor'ev A.M., **Kirillova A.D.**, Kirsanova L.A., Nemets E.A., Sevastianov V.I., Shagidulin M.Yu. Decellularized porcine liver fragments as tissue specific scaffolds for bioengineered human liver constructs. Proc. of the ESAO Annual Congress, 2020 // International Journal of Artificial Organs. – 2020. – Vol. 43. – № 8. – P. 518.
18. Басок Ю.Б., Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., **Кириллова А.Д.**, Немец Е.А., Севастьянов В.И. Клеточно-инженерные конструкции хрящевой ткани на основе биополимерного гидрогелевого и тканеспецифического матриксов. Медицинская физика (ТКМФ-7): Сборник тезисов VII Троицкой конференции с международным участием, Москва, 19–21 октября 2020 года. – М.: Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 2020. – С. 195–196.
19. Басок Ю.Б., **Кириллова А.Д.**, Григорьев А.М., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Севастьянов В.И. Инъекционная форма клеточно-инженерной конструкции на основе тканеспецифического матрикса для восстановления хрящевой ткани. Шестой междисциплинарный научный форум с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии». Москва. 23–27 ноября 2020 г. / Сборник материалов. Том I. – М.: Центр научно-технических решений (АНО ЦНТР), 2020 г. – С. 311–314.
20. **Кириллова А.Д.**, Григорьев А.М., Басок Ю.Б., Кирсанова Л.А., Немец Е.А., Шагидулин М.Ю., Севастьянов В.И. Получение тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной печени человека. Шестой междисципли-

нарный научный форум с международным участием «Новые материалы и перспективные технологии». Москва. 23–27 ноября 2020 г. / Сборник материалов. Том I. – М.: Центр научно-технических решений (АНО ЦНТР), 2020 г. – С. 360–362.

21. Григорьев А.М., Басок Ю.Б., Кирсанова Л.А., **Кириллова А.Д.**, Немец Е.А., Малкова А.П., Севастьянов В.И. Ксеногенная ткань печени как матрикс для биоинженерных конструкций. Медицинская физика (ТКМФ-7): Сборник тезисов VII Троицкой конференции с международным участием, Москва, 19–21 октября 2020 года. – М.: Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 2020. – С. 199–200.
22. **Kirillova A.D.**, Basok Yu.B., Lazhko A.E., Kirsanova L.A., Nemets E.A., Sevastianov V.I. Efficiency of using supercritical carbon dioxide for decellularization of articular cartilage. Abstracts book. Sechenov International Biomedical Summit 2020, 17.11–18.11.2020, Moscow, Russia. – М.: Publishing house of Sechenov University, 2020. – P. 16.
23. **Kirillova A.D.** Creating a tissue-specific microdispersed matrix from a decellularized porcine liver / **A.D. Kirillova**, Yu.B. Basok, A.E. Lazhko, A.M. Grigoryev, L.A. Kirsanova, E.A. Nemets, V.I. Sevastianov // Inorganic Materials: Applied Research. – 2021. – Vol. 12. – № 3. – P. 812–819.

Патенты

1. Севастьянов В.К., Басок Ю.Б., Немец Е.А., Кирсанова Л.А., **Кириллова А.Д.**, Готье С.В. Способ получения тканеспецифического матрикса для тканевой инженерии хряща. Патент на изобретение RU 2716577 C1, 12.03.2020 (заявка № 2019115236 от 17.05.2019). Дата регистрации: 12.03.2020 г., опубликовано: 12.03.2020, Бюл. № 8.

Список основных сокращений

БМКП	– биомедицинский клеточный продукт
ВКМ	– внеклеточный матрикс
ГАГ	– гликозаминогликаны
КИК	– клеточно-инженерная конструкция
МСК ЖТч	– мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани человека
МФП	– мелкодисперсные фрагменты печени
МСХ	– микрочастицы суставного хряща
ПАВ	– поверхностно-активное вещество
ск-СО ₂	– сверхкритический диоксид углерода
PBS	– фосфатно-солевой буфер
SDS	– додецилсульфат натрия

МИКРОРНК-424 ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА: АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ И ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Марченко А.В., Шевченко А.О.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Более чем полувековой мировой опыт трансплантации аллогенного донорского сердца человеку позволил достичь впечатляющих результатов: в условиях тщательно подобранной и контролируемой иммуносупрессии, регулярного наблюдения со своевременной диагностикой осложнений и сопутствующих заболеваний удастся добиться многолетней выживаемости реципиентов с поддержанием высокого качества их жизни. История трансплантации сердца (ТС) в нашей стране насчитывает 35 лет; ближайшие и отдаленные результаты не уступают мировым [Готье С.В. и соавт., 2014; Готье С.В., 2017].

Клинические результаты трансплантации во многом определяются эффективностью послеоперационного ведения реципиентов и качеством ранней диагностики осложнений, среди которых особую опасность в первый год после трансплантации представляют острое отторжение трансплантата и инфекционные осложнения, развивающиеся на фоне приема иммуносупрессивной терапии [Шевченко А.О. и соавт., 2018; Biderman P. et al., 2015; From A.M., 2011].

Многочисленные исследования последних десятилетий направлены на поиск неинвазивных (малоинвазивных) биомаркеров посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца и других солидных органов, что диктуется потребностью в доступном надежном скрининге и по возможности в ограничении числа инвазивных диагностических вмешательств при длительном наблюдении реципиентов. Имеются данные об эффективности биомаркеров костимуляции и активации лимфоцитов (sCD40L, ST2 и др.), макрофагов (неоптерин), воспаления и неоангиогенеза (моноци-

тарный хемоаттрактантный протеин MCP-1, плацентарный фактор роста PlGF и др.), фиброза (галектин-3) для ранней диагностики осложнений у реципиентов сердца. Однако многофакторность поражения и неспецифичность каждого биомаркера для сердечного трансплантата не позволяют считать проблему неинвазивной диагностики решенной [Шевченко О.П. и соавт., 2019; Ghosh G. et al., 2010].

Новый класс биомаркеров – микроРНК, регулирующие экспрессию отдельных генов, участвующие в широком спектре биологических процессов, включая дифференцировку, пролиферацию, апоптоз клеток, иммунный ответ и др. Выявленные корреляции профиля экспрессии отдельных микроРНК в тканях и биологических жидкостях с развитием и тяжестью заболеваний послужили основанием для их исследования в целях диагностики и прогноза, а их аналогов или ингибиторов – для терапии тяжелых хронических, в том числе сердечно-сосудистых, заболеваний.

МикроРНК-424 (miR-424), как показано в экспериментальных исследованиях, играет важную физиологическую роль при гипоксии, постишемическом ремоделировании сердца и сосудов, ангиогенезе; уровень его экспрессии связан с тяжестью атеросклероза, прогрессированием легочной артериальной гипертензии и гипертрофии правого желудочка [Baptista R. et al., 2018; Malik R. et al., 2017]. MiR-424 обладает иммуносупрессивным потенциалом: подавляет периферический иммунный и воспалительный ответ [Li G. et al., 2021]. Данных о физиологической роли и диагностическом потенциале микроРНК у реципиентов сердца крайне мало.

Цель исследования

Определить клиническое значение экспрессии микроРНК (miR-424) при трансплантации сердца и диагностическую эффективность данного показателя при развитии посттрансплантационных осложнений.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать величину экспрессии miR-424 в плазме крови потенциальных реципиентов сердца и провести сравнительный анализ уровня циркулирующей miR-424 у пациентов с хронической сердечной недостаточностью и у здоровых лиц.
2. У потенциальных реципиентов сердца оценить связь величины экспрессии miR-424 с клиническими и лабораторными данными, а также концентрацией биомаркеров посттрансплантационных осложнений.
3. Оценить изменения величины экспрессии miR-424 в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца и связь этого показателя с клинико-лабораторными данными у реципиентов сердца.
4. Охарактеризовать связь величины экспрессии miR-424 в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией такролимуса и с наличием

гистологических и иммуногистохимических признаков острого отторжения трансплантата.

5. Определить связь уровня циркулирующей miR-424 у реципиентов сердца с выявлением бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами.
6. Определить диагностическую эффективность уровня экспрессии miR-424 и дуплексного теста на miR-424 и С-реактивный белок при бактериальной инфекции, вызванной грамотрицательными микроорганизмами, у реципиентов сердца и легких.

Научная новизна

Новыми являются данные о величине и динамике экспрессии сигнальной молекулы miR-424 в плазме крови пациентов до и в различные сроки после трансплантации сердца; впервые показана связь уровня экспрессии miR-424 в плазме крови с развитием хронической сердечной недостаточности и ее этиологией.

Впервые установлена связь уровня циркулирующей miR-424 в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией ингибитора кальциневрина (такролимус) в крови в ранние сроки после трансплантации.

Впервые установлена и охарактеризована связь величины экспрессии miR-424 с выявлением бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, в ранние сроки после трансплантации сердца; новыми являются данные о диагностической эффективности комплексного теста, включающего определение уровня miR-424 и С-реактивного белка при бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, у реципиентов сердца и легких.

Теоретическая и практическая значимость

Обнаруженные изменения величины экспрессии miR-424 у больных хронической сердечной недостаточностью и корреляция уровня циркулирующей miR-424 с содержанием эритроцитов, гемоглобина и биомаркера неангиогенеза PLGF могут иметь теоретическое значение при изучении его физиологической роли при гипоксии, постишемическом ремоделировании сосудов и неангиогенезе и иметь потенциальное прогностическое и диагностическое значение у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Данные об изменении уровня экспрессии miR-424 у пациентов до и после трансплантации сердца (ТС) указывают на ее вовлеченность в развитие патологических процессов у реципиентов сердца и могут иметь перспективу использования для разработки новых диагностических и терапевтических тактик при осложнениях посттрансплантационного периода.

Выявленная взаимосвязь между уровнем циркулирующей miR-424 и содержанием ингибитора кальциневрина (такролимуса) в крови реципиентов сердца указывает на участие miR-424 в процессах формирования иммунных взаимоотношений организма реципиента и трансплантата, может иметь значение при разработке подходов к персонализации иммуносупрессии.

Измерение уровня экспрессии miR-424 может быть полезным в качестве скринингового лабораторного теста для выявления реципиентов сердца с риском развития бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами в ранние сроки после трансплантации.

Практическое значение имеет выявленная диагностическая значимость miR-424 при бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, а также повышение диагностических характеристик miR-424 в дуплексном тесте с С-реактивным белком.

Методология и методы исследования

В работе представлен анализ уровня экспрессии miR-424 в плазме крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью и реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации.

Оценена связь величины экспрессии miR-424 с развитием острого отторжения трансплантированного сердца, верифицированного по данным исследования образцов эндомикардиальных биоптатов, и бактериемии, верифицированной на основании микробиологических исследований.

Определение уровня экспрессии miR-424 осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР); концентрация протеомных биомаркеров измерялась иммуноферментным методом в различных модификациях.

Валидизация и оценка диагностических характеристик лабораторных тестов проводилась с помощью ROC-анализа, определения порогового значения, чувствительности, специфичности, позитивной и негативной предсказательной значимости. Статистический анализ и интерпретация полученных результатов производились с использованием непараметрических методов статистики, исходя из характеристики распределения значений исследуемых величин.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Величина экспрессии miR-424 в плазме крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью выше, чем у здоровых лиц, и зависит от этиологии сердечной недостаточности у потенциальных реципиентов сердца.
2. Уровень экспрессии miR-424 после трансплантации сердца коррелирует с содержанием иммуносупрессанта такролимуса в крови реципиентов в ранние сроки после трансплантации.

3. Экспрессия miR-424 у реципиентов сердца с верифицированной бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, достоверно выше, чем у реципиентов без таковой.
4. Величина экспрессии miR-424 обладает диагностической эффективностью в отношении развития инфекционных осложнений у реципиентов сердца и легких; совместная оценка величины экспрессии miR-424 и содержания С-реактивного белка повышает диагностическую эффективность теста.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (образцы плазмы крови, полученные от 121 обследованного) с использованием современных и стандартизированных методов исследования и статистической обработки.

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в кардиологическом отделении ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в клиничко-диагностической лаборатории и лаборатории иммунологического мониторинга ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в учебном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов ИКМ им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Получен патент РФ и два положительных решения Федеральной службы по интеллектуальной собственности (Роспатент) о выдаче патентов на изобретения.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включено 83 пациента с застойной сердечной недостаточностью в возрасте от 16 до 70 (48 ± 13) лет, из них 64 (77,1%) – мужчины, которым в период с 2013-го по 2016 год была выполнена ортотопическая трансплантация сердца (ТС) в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

Дополнительно в исследование были включены 26 реципиентов легких в возрасте от 10 до 74 (36 ± 16) лет, оперированных в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в период с 2014-го по 2020 год; группу сравнения составили 12 здоровых лиц.

Обследование пациентов проводилось в соответствии со стандартным протоколом и включало: общеклиническое физикальное обследование; лабораторные исследования (общий анализ крови и мочи, развернутый биохимический анализ крови, развернутая коагулограмма, концентрация такролимуса, бактериологические и вирусологические исследования и др.); рентгенологические исследования; электрокардиографию; магнитно-резонансную и мультиспиральную компьютерную томографию; мультипроеекционную коронарографию; исследования параметров центральной гемодинамики.

Все реципиенты получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую комбинацию ингибиторов кальциневрина (такролимус) и цитостатиков (микофенолата мофетил или микофеноловая кислота), а также варьирующие дозы преднизолона перорально, в зависимости от сроков после операции и частоты эпизодов отторжения трансплантата, и адъювантную медикаментозную терапию по показаниям).

Измерение концентрации такролимуса проводили иммунохимическим методом, используя анализатор ARCHITECT i2000 (Abbott, США) и набор реагентов ARCHITECT TacrolimusKit (Abbott, США) (клинико-диагностическая лаборатория – зав. к. м. н. Н.П. Шмерко).

Верификацию острого отторжения трансплантата производили на основании гистологического и иммуногистохимического исследования образцов тканей миокарда, полученных при эндомиокардиальной биопсии (ЭМБ) (отделение рентгеноэндоваскулярной диагностики и хирургического лечения – зав. отделением профессор Б.Л. МIRONKOV; отделение патологоанатомическое – зав. отделением д. м. н. Н.П. Можейко).

Верификация бактериемии производилась на основании данных бактериологических исследований посевов крови. Идентификация выделенных штаммов микроорганизмов и определение антибиотикочувствительности осуществлялись с применением бактериологического анализатора MicroScanWalkAway 96 PlusSystem (США); на анализаторе Osiris (Biorad Laboratories, Франция) определялись зоны задержки роста микроорганизмов (бактериологическая лаборатория отдела эндотоксикозов и гнойно-септических осложнений – зав. д. м. н. Н.И. Габриэлян).

В качестве материала для исследования использованы образцы плазмы венозной крови пациентов; кровь собирали в утреннее время в одноразовые пробирки с этилендиаминуксусной кислотой; плазму замораживали и хранили при -20°C .

Уровень экспрессии miR-424 измеряли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью наборов реагентов

SerumPlasma (Qiagen, США). Концентрацию галектина-3 измеряли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов Human Galectin-3 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Вена, Австрия); плацентарного фактора роста PlGF-1 и хемоаттрактантного белка макрофагов MCP-1 – с помощью технологии xMAP, устройства для фиксирования магнитных частиц на дне планшета (Hand-Held Magnetic) и наборов реагентов Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США).

Статистический анализ результатов проведен с помощью пакета программ Statistica v. 13.0 (StatSoftInc, США) и MEDCALC 12.7.5.0 (MedCalc software, Бельгия). Применение статистических критериев (U-критерий Манна–Уитни) обусловлено типом анализируемых данных. Для оценки связи качественных и количественных признаков применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r).

Значения непараметрических данных выражены медианой и интерквартильным размахом [25–75%]. Показатели параметрических данных представлены в виде верхней и нижней границы 95% доверительного интервала (95% ДИ).

Для всех критериев и тестов двусторонний уровень обозначения статистической значимости выбран $p < 0,05$. Посредством ROC-анализа осуществлялся выбор теста, обладающего наилучшей диагностической силой. Диагностическую значимость теста определяли путем расчета чувствительности (Se), специфичности (Sp), относительного риска (RR), диагностической эффективности (De), положительного и отрицательного прогностического значения теста (PPV и NPV соответственно).

Результаты исследования

Анализ уровня циркулирующей miR-424 у пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью (потенциальных реципиентов сердца)

Исследование уровня экспрессии miR-424 проводили в образцах плазмы крови 83 пациентов, исходно страдавших хронической сердечной недостаточностью (ХСН), среди которых: 50 пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), 30 – с ишемической болезнью сердца (ИБС), 3 – дисфункции ранее трансплантированного сердца, что стало показанием к ретрансплантации. Группы пациентов с ИБС, ДКМП и здоровых лиц не отличались по полу (70%, 66% и 62% мужчин соответственно); пациенты с ИБС были несколько старше (52 ± 6 лет), чем пациенты с ДКМП (40 ± 12 лет) и здоровые лица (44 ± 2 лет).

Величина экспрессии miR-424 у пациентов с ХСН варьировала в широких пределах и значимо не различалась у мужчин и женщин, ожидающих ТС ($p = 0,14$). Не выявлено значимой корреляции экспрессии miR-424 с возрастом потенциальных реципиентов ($r = 0,24$; $p = 0,26$).

У пациентов с ХСН установлены достоверно более высокие значения miR-424 в сравнении со здоровыми лицами ($p = 0,003$), что может свидетельствовать о возможной связи miR-424 с развитием патологии сердечно-сосудистой системы. У пациентов с ИБС медиана экспрессии miR-424 значимо выше в сравнении с группой здоровых лиц ($p = 0,00001$), и пациентов с ДКМП ($p = 0,02$) (рис. 1).

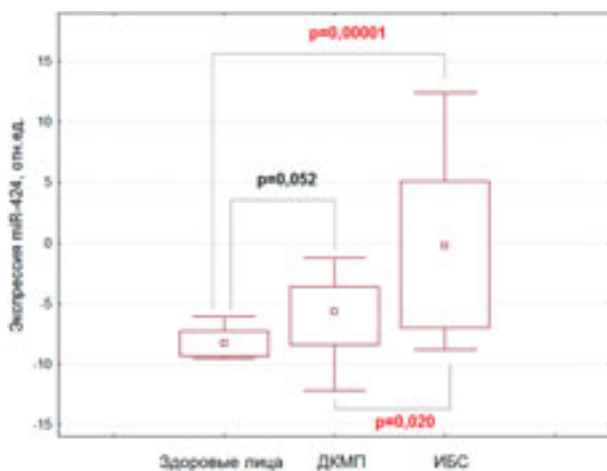


Рис. 1. Анализ уровня экспрессии miR-424 у пациентов с ДКМП и ИБС в сравнении с группой здоровых лиц

При анализе влияния сопутствующих заболеваний на уровень микроРНК не выявлено различий экспрессии miR-424 у пациентов с сахарным диабетом ($p = 0,91$) или хронической болезнью почек ($p = 0,40$) в сравнении с пациентами без указанных заболеваний.

Корреляционный анализ уровня циркулирующей miR-424 с показателями общего и биохимического анализов крови пациентов, ожидающих ТС, показал, что величина экспрессии miR-424 не зависела от большинства общеклинических показателей крови, однако имела место прямая корреляция уровня miR-424 с содержанием в крови эритроцитов ($r = 0,581$; $p = 0,009$) и гемоглобина ($r = 0,500$; $p = 0,033$) (табл. 1).

Корреляционный анализ уровня экспрессии miR-424 и основных параметров биохимического анализа крови пациентов с ХСН не выявил достоверной связи ни с одним из показателей.

Выявлена обратная корреляция уровня экспрессии miR-424 с концентрацией биомаркера фиброза тканей галектина-3 ($r = -0,596$; $p = 0,025$); а также прямая корреляция с уровнем биомаркера неоангиогенеза плацентарного фактора роста PLGF-1 ($r = 0,683$; $p = 0,042$), связи между концентрацией MCP-1 (хемоаттрактантный белок макрофагов, биомаркер воспаления) и уровнем miR-424 не обнаружено ($r = 0,400$; $p = 0,286$).

Таблица 1

**Корреляционный анализ уровня экспрессии miR-424
с показателями общего анализа крови у пациентов до ТС**

Параметры общего анализа крови	Корреляция Спирмена	
	r	p
Эритроциты ($10^{12}/л$)	r = 0,581	p = 0,009
Гемоглобин (г/л)	r = 0,500	p = 0,033
Лейкоциты ($10^9/л$)	r = -0,300	p = 0,197
Тромбоциты ($10^9/л$)	r = -0,108	p = 0,668
Нейтрофилы		
палочкоядерные (%)	r = -0,175	p = 0,678
сегментоядерные (%)	r = -0,140	p = 0,663
Лимфоциты (%)	r = -0,020	p = 0,948
Эозинофилы (%)	r = 0,139	p = 0,665
Базофилы (%)	r = -0,297	p = 0,348
Моноциты (%)	r = -0,216	p = 0,501
СОЭ (мм/час)	r = -0,330	p = 0,250

Сравнительный анализ концентрации галектина-3, MCP-1 и PLGF-1 (0,421; 0,261; 0,223 соответственно) не выявил различий между группами пациентов с ДКМП и ИБС.

Анализ экспрессии miR-424 у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

У реципиентов сердца величина экспрессии miR-424 в плазме крови варьирует в широких пределах в ранние и отдаленные сроки после ТС.

При сравнительном анализе величины miR-424 в различные сроки после трансплантации установлено, что в раннем (30 ± 14 суток) посттрансплантационном периоде уровень miR-424 достоверно ниже, чем у пациентов до трансплантации ($p = 0,01$) (рис. 2).

Достоверных различий уровня циркулирующей miR-424 у реципиентов спустя год после ТС (334 ± 69 суток, отдаленный период) с пациентами, ожидающими трансплантацию, как и с уровнем у реципиентов в ранние сроки, не установлено ($p = 0,10$).

Анализ связи величины циркулирующей miR-424 у реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации с основными клиническими и лабораторными данными показал отсутствие различий у реципиентов с исходным диагнозом ИБС и ДКМП как в раннем, так и в отдаленном послеоперационном периоде ($p = 0,88$ и $p = 0,36$ соответственно).

У 17 реципиентов в раннем посттрансплантационном периоде отмечалась острая почечная недостаточность (ОПН), требовавшая применения методов заместительной почечной терапии; значимых различий в уровне

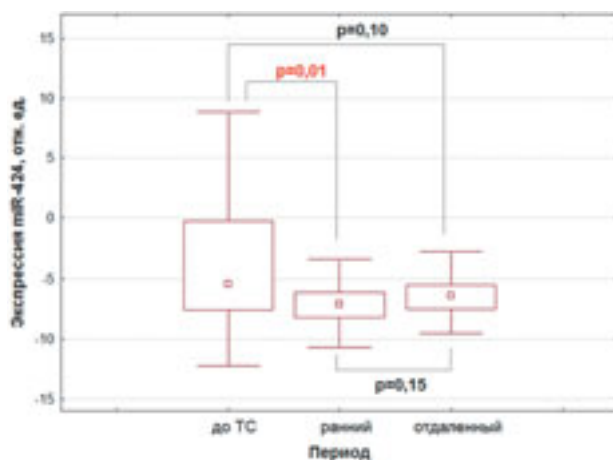


Рис. 2. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-424 у пациентов до ТС и реципиентов сердца в раннем и отдаленном периодах

циркулирующей miR-424 с реципиентами сердца без ОПН установлено не было ($p = 0,18$, рис. 3).

Среди реципиентов с ОПН пять пациентов до трансплантации страдали ХБП и ОПН, развившимися на фоне приема лекарственных препаратов.

Сравнительный анализ пациентов с ОПН с реципиентами без таковой показал, что величина экспрессии miR-424 не зависела от функции почек.

При сравнении с реципиентами без ОПН значимых различий в уровне циркулирующей miR-424 ни в подгруппе реципиентов с предшествующей

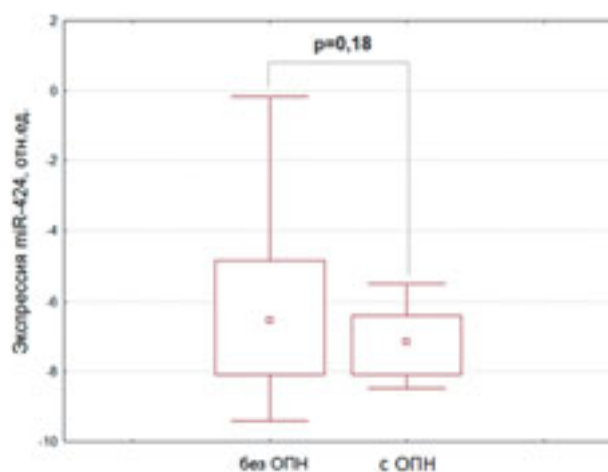


Рис. 3. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-424 у реципиентов сердца с ОПН и без таковой

ХБП ($p = 0,44$), ни с ОПН, развившейся после ТС ($p = 0,14$), не установлено.

Корреляционный анализ общеклинических параметров крови и величины экспрессии miR-424 показал наличие обратной связи miR-424 с содержанием моноцитов у реципиентов сердца в раннем посттрансплантационном периоде ($r = -0,659$; $p = 0,027$) (рис. 4).

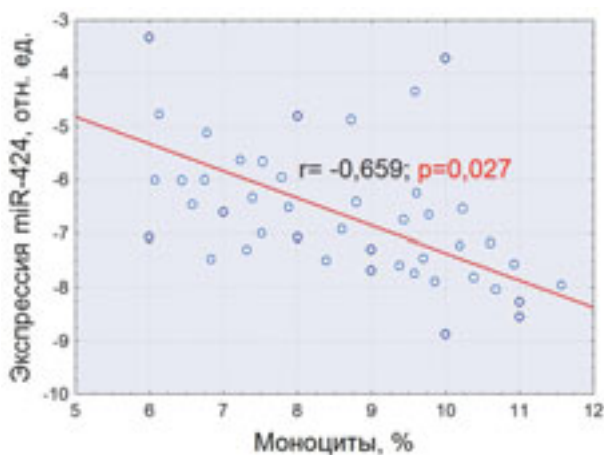


Рис. 4. Корреляция уровня экспрессии miR-424 с содержанием моноцитов в крови реципиентов в ранние сроки после ТС

У реципиентов сердца спустя год и более после операции значимых корреляций величины miR-424 с другими параметрами общего анализа крови не установлено ($p > 0,05$), т. е. имела место независимость уровня циркулирующей miR-424 от традиционных лабораторных параметров крови.

При корреляционном анализе экспрессии miR-424 с содержанием параметров биохимического анализа крови достоверной связи с большей частью показателей не было установлено (табл. 2).

В первый месяц после ТС у реципиентов сердца имела место прямая связь miR-424 с содержанием С-реактивного белка ($r = 0,752$; $p = 0,019$); в отдаленные сроки после ТС наблюдается обратная корреляция активности маркера цитолиза АСТ с экспрессией miR-424 ($r = -0,524$; $p = 0,018$).

У реципиентов сердца в различные сроки после ТС проведен корреляционный анализ величины циркулирующей miR-424 с концентрацией биомаркеров, значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений. Установлено, что в ранние сроки после ТС экспрессия miR-424 обратно коррелирует с концентрацией галектина-3 ($r = -0,534$; $p = 0,033$). Ни в ранние, ни в отдаленные сроки после ТС не выявлено значимых корреляций с биомаркерами осложнений, связанными с воспалением и неоангиогенезом, MCP-1 и PlGF-1 ($p > 0,05$).

Таблица 2

**Корреляционный анализ показателей экспрессии miR-424
с биохимическими показателями крови у реципиентов сердца
в ранние и отдаленные сроки после ТС**

Параметры биохимического анализа крови	Корреляция Спирмена (r, p)	
	Ранний период	Отдаленный период
Белок общий (г/л)	$r = 0,112$; $p = 0,728$	$r = 0,223$; $p = 0,359$
Билирубин общий (мкмоль/л)	$r = -0,381$; $p = 0,220$	$r = -0,121$; $p = 0,613$
Мочевина (ммоль/л)	$r = -0,434$; $p = 0,158$	$r = 0,255$; $p = 0,264$
Креатинин (мкмоль/л)	$r = -0,336$; $p = 0,285$	$r = 0,005$; $p = 0,982$
АЛТ (Ед./л)	$r = -0,133$; $p = 0,678$	$r = -0,381$; $p = 0,097$
АСТ (Ед./л)	$r = -0,372$; $p = 0,233$	$r = -0,524$; $p = 0,018$
ЩФ (Ед./л)	$r = -0,316$; $p = 0,684$	$r = -0,500$; $p = 0,117$
Холестерин (ммоль/л)	$r = 0,500$; $p = 0,667$	$r = -0,146$; $p = 0,576$
Глюкоза (ммоль/л)	$r = -0,286$; $p = 0,534$	$r = 0,138$; $p = 0,654$
СРБ (мг/л)	$r = 0,752$; $p = 0,019$	$r = -0,414$; $p = 0,355$

**Исследование связи уровня циркулирующей miR-424
с концентрацией такролимуса в крови реципиентов сердца**

Анализ связи величины экспрессии miR-424 с содержанием ингибитора кальциневрина (такролимуса) в крови реципиентов сердца показал, что концентрация такролимуса в крови реципиентов в раннем посттрансплантационном периоде обратно коррелировала с величиной экспрессии miR-424 ($r = 0,383$; $p = 0,044$) (рис. 5).

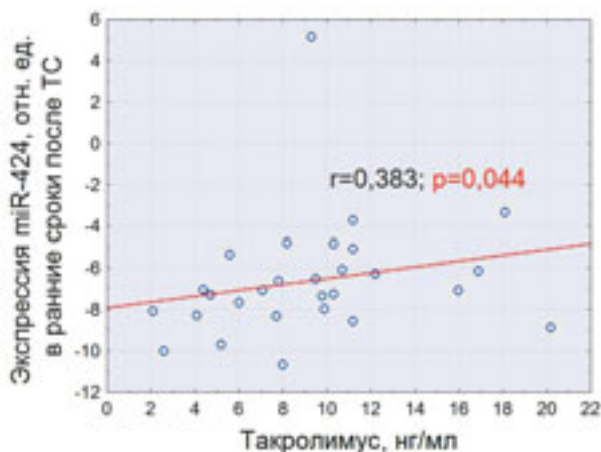


Рис. 5. Корреляция уровня экспрессии miR-424 с содержанием такролимуса в крови реципиентов в ранние сроки после ТС

С учетом выявленной зависимости уровня циркулирующей miR-424 и концентрации такролимуса в крови реципиентов сердца проведен сравнительный анализ величины экспрессии miR-424 в плазме крови реципиентов сердца с гистологическими и иммуногистохимическими признаками острого отторжения трансплантата и без таковых.

В течение первого месяца после ТС у 40 реципиентов были верифицированы кризы острого отторжения, по данным исследования эндомикардиальных биоптатов. Сравнение величины экспрессии miR-424 в крови реципиентов сердца с острым отторжением и без такового не показало достоверных различий (рис. 6).

В соответствии с классификацией ISHLT-2004 выделены 36 реципиентов с острым клеточным отторжением (R1G – R3G степени) и 4 реципиента – с гуморальным и оценен уровень экспрессии исследуемой микроРНК в зависимости от характера отторжения (рис. 7).

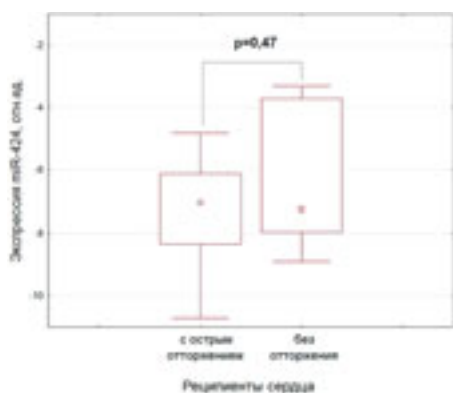


Рис. 6. Уровень экспрессии miR-424 у реципиентов сердца с острым отторжением трансплантата в ранние сроки после ТС и без такового

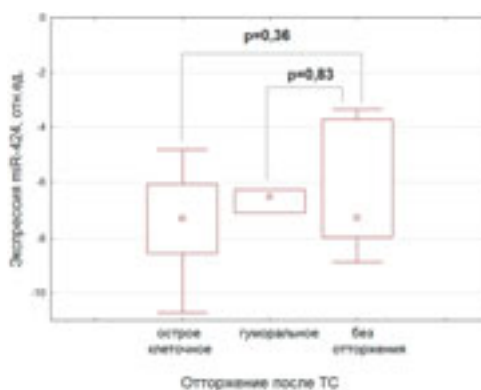


Рис. 7. Уровень экспрессии miR-424 у реципиентов сердца с острым клеточным и гуморальным отторжением трансплантата в ранние сроки после ТС и без такового

Сравнительный анализ показал, что в группах реципиентов сердца как с острым клеточным, так и с гуморальным отторжением трансплантата, величина экспрессии miR-424 достоверно не различалась с группой реципиентов без признаков отторжения ($p = 0,36$ и $p = 0,83$ соответственно).

Анализ экспрессии miR-424 в плазме крови реципиентов сердца с верифицированной бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами

По результатам бактериологических исследований посевов крови у 20 реципиентов сердца в раннем посттрансплантационном периоде вери-

фицирована бактериемия, ассоциированная с различными возбудителями. Согласно результатам бактериологических исследований, основную долю микроорганизмов составили представители грамотрицательных бактерий *Acinetobacter baumannii* (55,0%), *Acinetobacter lwoffii* (20,0%) и *Klebsiella pneumoniae* (40,0%), обладающие широкой лекарственной устойчивостью.

Проведен сравнительный анализ уровня экспрессии miR-424 у реципиентов сердца с признаками бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, и без таковых (рис. 8).

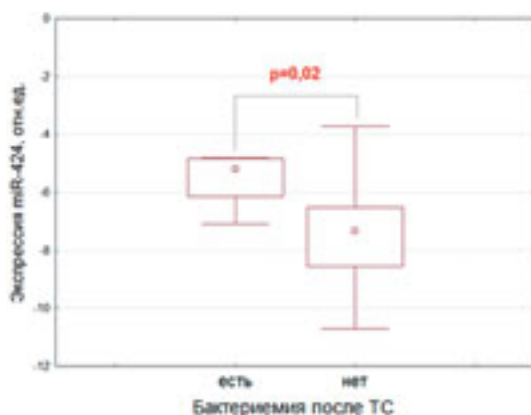


Рис. 8. Уровень экспрессии miR-424 у реципиентов сердца с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, и без таковой в ранние сроки после ТС

Установлено, что у реципиентов сердца с верифицированной бактериемией, ассоциированной с грамотрицательной микрофлорой, имел место значимо более высокий уровень циркулирующей miR-424 ($p = 0,02$).

Медиана концентрации такролимуса в крови реципиентов сердца составила 9,6 [6,3; 12,1] нг/мл. Достоверных различий в медианах концентрации такролимуса в крови реципиентов сердца с бактериемией и без таковой не обнаружено (табл. 3).

Таблица 3

Сравнительный анализ концентрации такролимуса в группах реципиентов сердца с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, и без таковой

Бактериemia после ТС	Концентрация такролимуса	Достоверность, p^*
Есть	8,2 [5,8; 11,2]	0,48
Нет	9,8 [7,7; 12,5]	

Частота развития бактериемии у реципиентов сердца с концентрацией такролимуса в крови выше и ниже медианы составила 23 и 35% соответственно и достоверно не различалась ($p = 0,63$).

Установленный факт показывает, что величина концентрации такролимуса в крови реципиента не может быть индикатором риска развития бактериемии после ТС.

Определение диагностической значимости miR-424 при верифицированной бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, у реципиентов сердца и легких

Установленный факт более высокого уровня циркулирующей miR-424 у реципиентов сердца с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательной микрофлорой, указывает на связь miR-424 с инфекцией у пациентов после ТС и его возможное диагностическое значение. Для валидации miR-424 как лабораторного теста необходимо произвести расчеты его диагностической значимости.

Для более точной характеристики диагностической значимости теста на miR-424 в отношении бактериальной инфекции в исследование были дополнительно включены 26 пациентов, перенесших трансплантацию легких (ТЛ) в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России. Группы реципиентов легких и реципиентов сердца не различались по гендерному составу ($p = 0,13$). Реципиенты легких были несколько моложе (36 ± 16 лет) реципиентов сердца ($p = 0,001$), что не препятствует объединению реципиентов, поскольку величина циркулирующей miR-424 с возрастом достоверно не коррелирует. Сравнительный анализ уровня циркулирующей miR-424 у реципиентов сердца и легких не показал достоверных различий ни до трансплантации ($p = 0,74$), ни после нее ($p = 0,11$).

Среди 26 реципиентов легких у 17 в раннем посттрансплантационном периоде была выявлена бактериемия. Как и у реципиентов сердца, в большинстве случаев ее возбудителями выступали грамотрицательные микроорганизмы *Acinetobacter baumannii* (52,9%) и *Klebsiella pneumoniae* (52,9%). Как и в группе реципиентов сердца, у реципиентов легких с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными бактериями, величина циркулирующей miR-424 значимо выше, чем у реципиентов легких без таковой ($p = 0,04$, рис. 9).

При сравнении реципиентов сердца и легких с бактериемией (табл. 4) значимых различий в уровне miR-424 также не было установлено ($p = 0,66$), что дает основание объединить реципиентов сердца и легких с бактериемией для оценки диагностической значимости экспрессии miR-424.

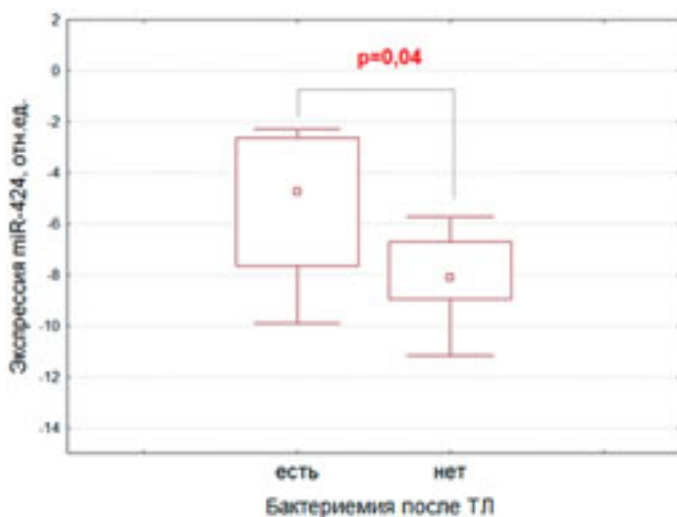


Рис. 9. Уровень экспрессии miR-424 у реципиентов легких с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, и без таковой в ранние сроки после ТЛ

Таблица 4

Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-424 у реципиентов с бактериемией и без таковых в ранние сроки после трансплантации сердца и легких (ТС и ТЛ)

Реципиенты	Экспрессия miR-424 медиана [интерквартильный размах]		Достоверность, р
	ТС	ТЛ	
Без бактериемии	-7,34 [-8,44; -6,57]	-8,10 [-8,92; -6,79]	0,47
С бактериемией	-5,22 [-5,95; -4,89]	-4,74 [-7,48; -2,93]	0,66

Оценку диагностической значимости miR-424 при бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, проводили с помощью ROC-анализа. Оценена площадь под ROC-кривой, которая составила $0,75 \pm 0,07$ [95% ДИ 0,61–0,85] и достоверно отличалась от величины 0,5 ($p = 0,001$, рис. 10).

Диагностически значимый пороговый уровень miR-424 в отношении развития бактериемии составил $-5,72$ отн. ед.; относительный риск выявления бактериемии, вызванной грамотрицательными микроорганизмами, при величине экспрессии miR-424 выше рассчитанного порогового уровня составил $RR = 3,84 + 0,35$ [95% ДИ 1,94–7,61]), $p = 0,0001$ при чувствительности и специфичности теста 60,0 и 89,2% соответственно.

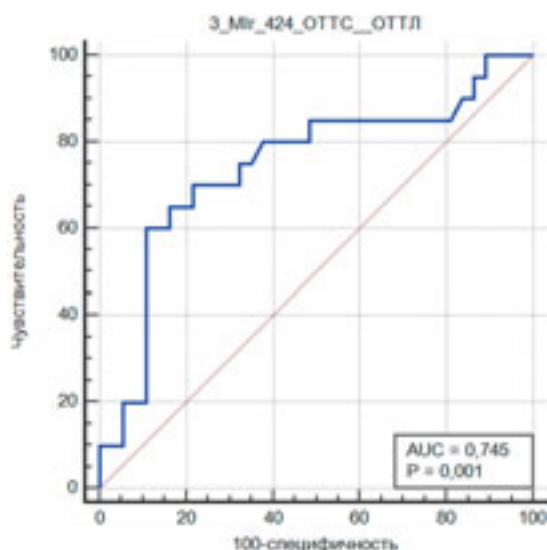


Рис. 10. ROC-кривая уровня экспрессии miR-424 у реципиентов сердца и легких с развитием бактериемии в раннем посттрансплантационном периоде

Доля реципиентов сердца с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, и без таковой достоверно различалось в зависимости от величины экспрессии miR-424 (рис. 11).

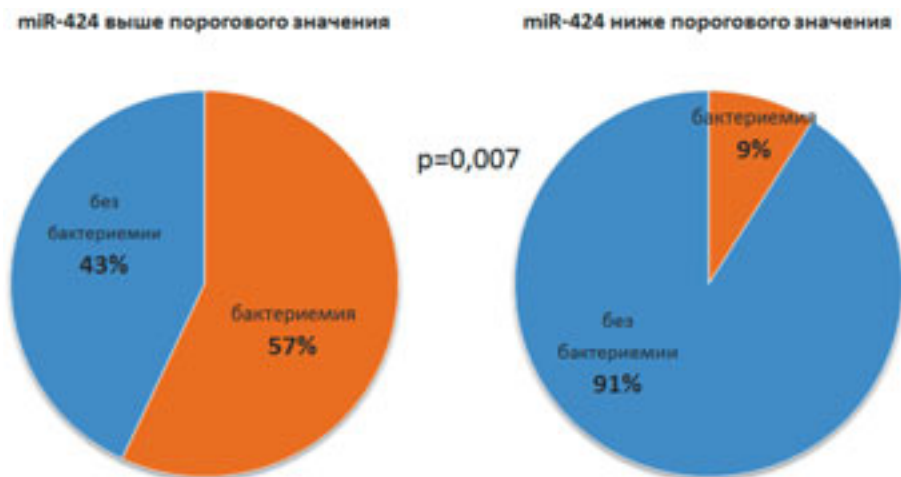


Рис. 11. Доля реципиентов сердца с бактериемией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, в группах реципиентов сердца с уровнем miR-424 выше и ниже порогового значения

В группе реципиентов сердца с уровнем циркулирующей miR-424 выше рассчитанного порогового значения частота развития бактериемии достоверно выше, чем в группе с величиной экспрессии ниже порогового значения ($p = 0,007$). Таким образом, в отличие от такролимуса, концентрация которого в крови у реципиентов сердца не отражает наличие бактериемии после ТС, уровень циркулирующей miR-424 может иметь практическое значение для мониторинга осложнений бактериального генеза.

Ввиду наличия у реципиентов сердца корреляции циркулирующей miR-424 с содержанием С-реактивного белка (СРБ), индикатора острой фазы воспаления, была проанализирована его диагностическая значимость для выявления пациентов с бактериемией. В качестве порогового уровня концентрации СРБ принимали 7 мг/л, при этом относительный риск выявления бактериемии у реципиентов сердца и легких составлял 2,01 раза при чувствительности и специфичности 61,9 и 69,2% соответственно (табл. 5).

Таблица 5

**Диагностические характеристики
совместного измерения уровней экспрессии miR-424
и концентрации СРБ у реципиентов сердца и легких
с бактериемией**

Биомаркер	RR	Границы 95% ДИ	Se	Sp	De	PPV	NPV
СРБ	2,01	[1,03–3,92]	61,9%	69,2%	66,0%	61,9%	69,2%
miR-424	3,84	[1,94–7,61]	60,0%	89,2%	78,9%	75,0%	80,5%
miR-424+СРБ	9,17	[1,37–61,46]	83,3%	90,1%	88,2%	83,3%	90,9%

Примечание. RR – относительный риск; Se – чувствительность; Sp – специфичность; De – диагностическая эффективность; PPV, NPV – положительное и отрицательное прогностическое значение теста.

Тест, включающий совместное определение величины экспрессии miR-424 и концентрации СРБ, обладает наилучшими диагностическими характеристиками: при уровне экспрессии miR-424 выше порогового значения (–5,72 отн. ед.) и одновременном превышении концентрации СРБ в крови реципиентов более 7 мг/л риск развития бактериемии возрастает до 9,2 раза ($RR = 9,17 \pm 0,97$ [95% ДИ 1,37–61,46]), при этом чувствительность и специфичность составила 83,3 и 90,1%, соответственно (рис. 12).

Представленные результаты позволяют сделать вывод об эффективности сочетания miR-424 с неспецифическим маркером воспаления СРБ в комплексном тесте для скрининга пациентов с бактериемией после транс-

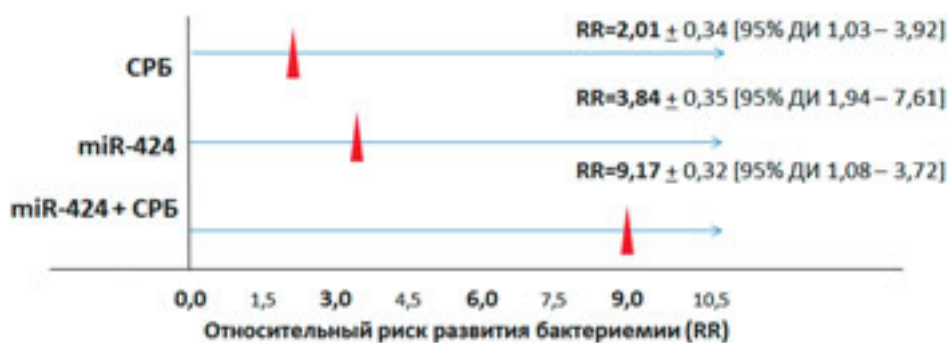


Рис. 12. Относительный риск развития bacterиeмии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, у реципиентов сердца и легких с уровнем miR-424 выше порогового значения (–5,72 отн. ед.)

плантации сердца и легких, а также перспективности дальнейшего изучения циркулирующих микроРНК в качестве эффективных биомаркеров осложнений у реципиентов солидных органов.

Выводы

1. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью средний уровень циркулирующей miR-424 достоверно выше, чем у здоровых лиц ($p = 0,003$); отличия уровня циркулирующей miR-424 от здоровых более выражены у пациентов с ИБС, нежели с ДКМП.
2. У пациентов с ХСН величина экспрессии miR-424 не зависит от пола, возраста, наличия сопутствующих сахарного диабета, хронической болезни почек и не коррелирует с большинством лабораторных параметров крови, но связана с содержанием эритроцитов ($r = 0,581$; $p = 0,009$), гемоглобина ($r = 0,500$; $p = 0,033$), концентрацией биомаркеров фиброза (галектина-3; $r = -0,596$; $p = 0,025$) и неоангиогенеза (плацентарного фактора роста PLGF-1; $r = 0,683$; $p = 0,042$).
3. У реципиентов сердца величина экспрессии miR-424 варьирует в широких пределах и коррелирует в раннем посттрансплантационном периоде с содержанием моноцитов ($r = -0,659$; $p = 0,027$) и С-реактивного белка ($r = 0,752$; $p = 0,019$).
4. Уровень циркулирующей miR-424 связан с содержанием такролимуса в крови реципиентов сердца в ранние сроки после трансплантации ($r = 0,383$; $p = 0,044$), но не различается у реципиентов с гистологическими и иммуногистохимическими признаками отторжения трансплантата и без таковых.
5. У реципиентов сердца с верифицированной bacterиeмией, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, уровень

циркулирующей miR-424 достоверно выше, чем у реципиентов без таковой ($p = 0,02$).

6. При величине экспрессии miR-424 выше рассчитанного порогового значения риск развития бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, у реципиентов сердца, легких в 3,9 раза выше, чем у реципиентов с величиной экспрессии ниже порогового уровня.
7. При одновременном выявлении у реципиента уровня циркулирующей miR-424 выше $-5,72$ отн. ед. и концентрации С-реактивного белка более 7 мг/л риск обнаружения бактериемии, ассоциированной с грамотрицательными микроорганизмами, в 9,2 раза выше, чем у остальных реципиентов, при чувствительности и специфичности теста 83,3 и 90,1%, соответственно.

Практические рекомендации

Контроль уровня циркулирующей miR-424 может быть полезным для оценки состояния пациентов с хронической сердечной недостаточностью и реципиентов в ранние сроки после трансплантации сердца.

Определение величины экспрессии miR-424 у реципиентов сердца может иметь значение для персонифицированного подхода к выбору оптимального режима иммуносупрессивной терапии.

Измерение уровня циркулирующей miR-424 у реципиентов сердца целесообразно использовать для скрининга пациентов с риском развития инфекционных осложнений бактериального генеза.

Реципиентам сердца с уровнем циркулирующей miR-424 выше $-5,72$ отн. ед. рекомендовано клиническое обследование на наличие бактериальной инфекции.

С целью повышения чувствительности и специфичности теста в отношении выявления реципиентов с риском инфекционных осложнений рекомендовано совместное измерение уровня miR-424 и концентрации С-реактивного белка.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. МикроРНК-27 и -339 при фиброзе миокарда трансплантированного сердца: анализ диагностической значимости / Шевченко О.П., Великий Д.А., Шарапченко С.О., Гичкун О.Е., **Марченко А.В.**, Улыбышева А.А., Павлов В.С., Можейко Н.П., Колоскова Н.Н., Шевченко А.О. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 73–81.
2. Связь уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией биомаркеров посттрансплантационных осложнений / Великий Д.А., Гичкун О.Е., Улыбышева А.А., Шарапченко С.О., **Марченко А.В.**,

- Шевченко О.П., Шевченко А.О. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 69–78.
3. Великий Д.А., Шевченко О.П., Шарапченко С.О., Гичкун О.Е., **Марченко А.В.**, Можейко Н.П., Улыбышева А.А., Павлов В.С., Колоскова Н.Н., Шевченко А.О. Анализ диагностической значимости микроРНК miR-27 и miR-339 при фиброзе миокарда трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2021. – № 23 (S). – С. 48.
 4. Великий Д.А., Гичкун О.Е., **Марченко А.В.**, Улыбышева А.А., Шевченко А.О., Шевченко О.П. Уровень экспрессии микроРНК у реципиентов сердца и его связь с концентрацией биомаркеров отторжения и фиброза миокарда // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – № 22 (S). – С. 38–39.

Патенты и изобретения

1. Способ неинвазивной диагностики фиброза миокарда трансплантированного сердца. Великий Д.А., Шарапченко С.О., Гичкун О.Е., **Марченко А.В.**, Можейко Н.П., Улыбышева А.А., Шевченко А.О., Шевченко О.П. Решение о выдаче патента на изобретение от 24.09.2021. Заявка № 2021108611 от 30.03.2021.
2. Способ диагностики острого отторжения трансплантата у реципиентов трансплантированного сердца. Шевченко О.П., Великий Д.А., Гичкун О.Е., Можейко Н.П., **Марченко А.В.**, Шарапченко С.О., Шевченко А.О. Решение о выдаче патента на изобретение от 28.09.2021. Заявка № 2020142677 от 23.12.2020.
3. Амид нонапептида, обладающий способностью предотвращать повышение проницаемости эндотелия сосудов. Беспалова Ж.Д., Бушуев В.Н., Куликова Т.Г., **Марченко А.В.**, Молокоедов А.С., Секридова А.В., Сидорова М.В., Степанова О.В., Ширинский В.П. Патент на изобретение RU 2402565 C1, 27.10.2010. Заявка № 2009116126/04 от 29.04.2009.

Список сокращений

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
ДИ	– доверительный интервал
ДКМП	– дилатационная кардиомиопатия
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
miR	– микрорибонуклеиновая кислота микроРНК
ОПН	– острая почечная недостаточность
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов
СРБ	– С-реактивный белок
ТЛ	– трансплантация легких

ТС	– трансплантация сердца
ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России	– Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭМБ	– эндомиокардиальная биопсия
МСР-1	– хемоаттрактантный белок макрофагов
PLGF-1	– плацентарный фактор роста 1

**IX. ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ
В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ
ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ
В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ
В 2021 г.**

1. Agapova, O.I. Scanning Optical Probe Nanotomography for Investigation of the Structure of Biomaterials and Cells / O.I. Agapova, A.E. Efimov, L.A. Safonova, M.M. Bobrova, I.I. Agapov, S.V. Gautier // *Doklady Biological Sciences*. – 2021. – Vol. 500. – № 1. – P. 331–334. doi: 10.1134/S160767292105001X
2. Bobrova, M.M. Relation between micro- and nanostructure features and biological properties of the decellularized rat liver / M.M. Bobrova, L.A. Safonova, A.E. Efimov, I.M. Iljinsky, O.I. Agapova, I.I. Agapov // *Biomedical Materials*. – 2021. – Vol. 16. – Iss. 4. – P. 528–536. doi: 10.1088/1748-605X/ac058b
3. Gautier, S. Time is of the essence: A single-center experience of hepatic arterial supply impairment management in pediatric liver transplant recipients / S. Gautier, A. Monakhov, O. Tsiroulnikova, B. Mironkov, M. Voskanov, T. Dzhanbekov, E. Azoev, Kh. Khizroev, D. Dzhipner, I. Pashkova // *Pediatric Transplantation*. – 2021. – Vol. 25. – Iss. 3. – e13934. doi: 10.1111/ptr.13934
4. Gautier, S.V. Artificial heart in Russia: Past, present, and future / S.V. Gautier, A.O. Shevchenko, G.P. Itkin, V.M. Zakharevich, V.N. Poptsov, A.A. Drobyshev, D.V. Telyshev // *Artificial Organs*. – 2021. – № 45. – P. 111–114.
5. Gavrilova, N.A. The effect of biodegradable silk fibroin-based scaffolds containing glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) on the corneal regeneration process / N.A. Gavrilova, S.A. Borzenok, A.V. Revishchin, O.E. Tishchenko, D.S. Ostrovkiy, M.M. Bobrova, L.A. Safonova, A.E. Efimov, O.I. Agapova, M.B. Agammedov, G.V. Pavlova, I.I. Agapov // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2021. – Vol. 185. – P. 264–276. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.040
6. Khubezov, D.A. Cadaver course in the training system of an urgent surgeon / D.A. Khubezov, L.D. Khubezov, S.N. Trushin, A.Y. Ogoreltsev, D.K. Puchkov, I.S. Ignatov, S.V. Rodimov, A.R. Krotkov // *Sklifosovsky Journal Emergency Medical Care*. – 2021. – Vol. 9. – Iss. 4. – P. 606–611. doi: 10.23934/2223-9022-2020-9-4-606-611
7. Kirillova, A.D. Creating a Tissue-Specific Microdispersed Matrix from a Decellularized Porcine Liver / A.D. Kirillova, Y.B. Basok, A.E. Lazhko, A.M. Grigoryev, L.A. Kirsanova, E.A. Nemets, V.I. Sevastianov // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2021. – Vol. 12. – Iss. 3. – P. 812–819. doi: 10.1134/S2075113321030199
8. Kurkov, A. Amiantoid transformation of costal cartilage matrix in children with pectus excavatum and pectus carinatum / A. Kurkov, A. Guller, A. Fayzullin, N. Fayzullina, V. Plyakin, S. Kotova, P. Timashev, A. Frolova, N. Kurtak, V. Paukov, A. Shekhter // *PLoS ONE*. – 2021. – Vol. 16. – Iss. 1. – e0245159. doi: 10.1371/journal.pone.0245159
9. Kuznetsova, E.G. The Combined Use of Synthetic and Biological Test Systems in the Development of Transdermal Therapeutic Systems / E.G. Kuznetsova, O.M. Kuryleva, L.A. Salomatina, V.I. Sevastianov // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2021. – Vol. 12. – Iss. 2. – P. 386–392. doi: 10.1134/S2075113321020295

10. Nifontova, G. Nanoparticle-Doped Hybrid Polyelectrolyte Microcapsules with Controlled Photoluminescence for Potential Bioimaging Applications / G. Nifontova, V. Krivenkov, M. Zvaigzne, A. Efimov, E. Korostylev, S. Zarubin, A. Karaulov, I. Nabiev, A. Sukhanova // *Polymers*. – 2021. – Vol. 13. – Iss. 23. – № 4076. doi: 10.3390/polym13234076
11. Safonova, L. A comparative analysis of the structure and biological properties of films and microfibrinous scaffolds based on silk fibroin / L. Safonova, M. Bobrova, A. Efimov, A. Lyundup, O. Agapova, I. Agapov // *Pharmaceutics*. – 2021. – Vol. 13. – № 10. – № 1561. doi: 10.3390/pharmaceutics13101561
12. Safonova, L.A. Surface Modification of Alginate Microcarriers for Improvement of Their Biological Properties / L.A. Safonova, M.M. Bobrova, A.E. Efimov, O.I. Agapova, I.I. Agapov, S.V. Gautier // *Doklady Biological Sciences*. – 2021. – Vol. 499. – № 1. – P. 97–98. doi: 10.1134/S0012496621040050
13. Safonova, L. Silk Fibroin/Spidroin Electrospun Scaffolds for Full-Thickness Skin Wound Healing in Rats / L. Safonova, M. Bobrova, A. Efimov, L. Davydova, T. Tenchurin, V. Bogush, O. Agapova, I. Agapov // *Pharmaceutics*. – 2021. – Vol. 13. – Iss. 10. – № 1704. doi: 10.3390/pharmaceutics13101704
14. Sevastianov, V.I. Comparative Analysis of the Influence of Extracellular Matrix Biomimetics on the Viability and Insulin-Producing Function of Isolated Pancreatic Islets / V.I. Sevastianov, N.V. Baranova, L.A. Kirsanova, A.S. Ponomareva // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Research*. – 2021. – Vol. 3. – № 2. – P. 17–25.
15. Sevastianov, V.I. A comparison of the capacity of mesenchymal stromal cells for cartilage regeneration depending on collagen-based injectable biomimetic scaffold type / V.I. Sevastianov, Y.B. Basok, L.A. Kirsanova, A.M. Grigoriev, A.D. Kirillova, E.A. Nemets, A.M. Subbot, S.V. Gautier // *Life-Basel*. – 2021. – Vol. 11. – № 8. – Номер статьи 756. doi: 10.3390/life11080756
16. Shcherbachev, A. Determination of electrode assembly parameters for electroimpedance measurement of AHV volume / A. Shcherbachev, G. Itkin, E. Bychkov, I. Kudashov, A. Galyamov // 2021 Ural symposium on biomedical engineering, radioelectronics and information technology (Usbereit). – 2021. – P. 125–128. doi: 10.1109/USBREIT51232.2021.9455120
17. Shevchenko, O. MiR-339 and galectin-3: diagnostic value in patients with airway obstruction after lung transplantation / O. Shevchenko, O. Tsiurlikova, S. Sharapchenko, I. Pashkov, M. Bekov, E. Shigaev, O. Gichkun, D. Velikiy, S. Gautier // *Transplant International*. – 2021. – Vol. 34. – Iss. 9. – P. 1733–1739. doi: 10.1111/tri.13986
18. Syrbu, A.I. A Mathematical Model of Neurohumoral Regulation of the Circulatory System / A.I. Syrbu, G.P. Itkin, A.P. Kuleshov, N.A. Gaidai // *Biomedical Engineering*. – 2021. – Vol. 55. – Iss. 4. – P. 284–288. doi: 10.1007/s10527-021-10119-6
19. Tsvetkova, A.V. Chondrogenic Potential of MSC from Different Sources in Spheroid Culture / A.V. Tsvetkova, I.V. Vakhrushev, Y.B. Basok, A.M. Grigor'ev, L.A. Kirsanova, A.Y. Lupatov, V.I. Sevastianov, K.N. Yarygin // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2021. – Vol. 170. – Iss. 4. – P. 528–536. doi: 10.1007/s10517-021-05101-x

Трансплантология: итоги и перспективы

Том XIII

2021 год

Под редакцией академика РАН С.В. Готье

ООО «Издательство «Триада». ИД № 06059 от 16.10.01 г.
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 514.
Тел./факс: (4822) 42-90-22, 35-41-30.
E-mail: triadatver@yandex.ru
<http://www.triada.tver.ru>

Подписано к печати 24.08.22. Формат бумаги 70×100 ¹/₁₆.
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. листов 26. Тираж 1000 экз.

Заказ № 1375-22

Отпечатано в ООО «Тверской Печатный Двор».
170100, г. Тверь, ул. Московская, д. 82

