

ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Том XII
2020 год

Под редакцией С.В. Готье

*90-летию со дня рождения
академика В.И. Шумакова
посвящается*



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 XII 2020 год

Под редакцией академика РАН С.В. Готье

Москва
2021

УДК 616-089.819.843
ББК 52.5
T65

T65 **Трансплантология: итоги и перспективы. Том XII. 2020 год /**
Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада»,
2021. – 448 с.: ил.

ISBN 978-5-94789-991-7

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 XII томе издания «Трансплантология: итоги и перспективы», посвященного 90-летию со дня рождения академика Валерия Ивановича Шумакова, публикуются материалы, отражающие достижения клинической трансплантологии в 2020 году и перспективы развития данной 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. Здесь публикуются материалы прошедшего X Всероссийского съезда трансплантологов, защищенных диссертационных работ по специальности «трансплантология и искусственные органы», 35-летие которой празднуется в 2021 году, и библиография изданных в 2020 году публикаций российских авторов в зарубежных журналах.

ББК 52.5

Техническая редакция:
Е.В. Яновская, О.Н. Щегнина

ISBN 978-5-94789-991-7

© С.В. Готье, 2021
© Макет ООО «Издательство «Триада», 2021

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 ФГАОУ ВО 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

Антонова Лариса Валерьевна

Доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий отдела экспериментальной медицины ФГБУ «НИИ КПССЗ»

Баранова Наталья Владимировна

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

Беков Максат Турдумаматович

Кандидат медицинских наук, заведующий эндоскопическим отделением ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Воробьев Константин Александрович

Кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией «Тканевой банк» ФГБУ «НМИЦ ТИО им. Н.Н. Пирогова» Минздрава России

Восканов Михаил Альбертович

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

Гончарова Анна Юрьевна

Кандидат медицинских наук, врач-кардиолог кардиологического 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 ФGAOY BO Первый MГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Догонашева Анастасия Анатольевна

Кандидат медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии-реанимации ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Ильинский Игорь Михайлович

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клинической патологии ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Колоскова Надежда Николаевна

Доктор медицинских наук, заведующая кардиологическим отделением ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Можейко Наталья Павловна

Доктор медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Муравьев Александр Николаевич

Кандидат медицинских наук, руководитель направления «Урология, гинекология и абдоминальная хирургия» ФГБУ «СПб НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России

Олешкевич Денис Олегович

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

Орлова Надежда Валерьевна

Кандидат медицинских наук, научный сотрудник направления «Урология, гинекология и абдоминальная хирургия» ФГБУ «СПб НИИ фтизиопульмонологии» 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

Сенокосова Евгения Андреевна

Кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины ФГБУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

Сёмаш Константин Олесяевич

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

Стаханова Екатерина Анатольевна

Кандидат биологических наук, заведующая отделом координации и мониторинга научных программ ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

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 ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Шарапченко Софья Олеговна

Кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела регуляторных механизмов в трансплантологии 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 ФГАОУ ВО Первый МГМУ 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 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет)

Яблонский Петр Казимирович

Доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «СПб НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	12
I. X ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ (С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ) <i>Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Улыбышева А.А.</i>.....	15
II. ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2020 ГОДУ (XIII сообщение регистра Российского трансплантологического общества) <i>Готье С.В., Хомяков С.М.</i>	21
III. НАПРАВЛЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ.....	65
Краткий аналитический обзор результатов работ, выполненных в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова в рамках государственного задания на осуществление научных исследований и разработок за 2020 год <i>Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Стаханова Е.А.</i>.....	66
IV. ТРАДИЦИИ ВЕДУЩЕЙ НАУЧНОЙ ШКОЛЫ НМИЦ ТИО ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА: гранты Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ <i>Готье С.В., Шевченко О.П.</i>.....	75
V. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФГБУ «НМИЦ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА» МИНЗДРАВА РОССИИ.....	81

VI. НОВОЕ В ПОРЯДКЕ ПРИСУЖДЕНИЯ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ».....	85
Право самостоятельного присуждения ученых степеней кандидата и доктора наук получил НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова	86
Трансплантология и искусственные органы в новой номенклатуре научных специальностей: сочетание стабильности и обновления	88
VII. ПЕРЕЧЕНЬ ДЕЙСТВУЮЩИХ ДИССЕРТАЦИОННЫХ СОВЕТОВ по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальности 14.01.24. – «трансплантология и искусственные органы» с указанием диссертационных работ, защищенных в 2020 г.....	93
VIII. МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИЙ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ», ЗАЩИЩЕННЫХ В 2020 г. в диссертационном совете Д 208.055.01 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России	101
Материалы диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук.....	103
Медикаментозная терапия у реципиентов трансплантированного сердца Колоскова Н.Н., Шевченко А.О.....	104
Патоморфология трансплантированного сердца Можейко Н.П., Ильинский И.М.....	139
Материалы диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук	185
Мультимодальная бронхоскопия в трансплантации легких Беков М.Т., Готье С.В.....	186

Аллогенные костные материалы для реконструктивной хирургии и тканевой инженерии (экспериментальное исследование) <i>Воробьев К.А., Севастьянов В.И.</i>	203
Интервенционные методы коррекции сосудистых осложнений и билиодigestивных стриктур после трансплантации печени у детей <i>Восканов М.А., Готье С.В.</i>	227
Предикторы развития и прогрессирования васкулопатии коронарных артерий у реципиентов сердца <i>Гончарова А.Ю., Шевченко А.О.</i>	252
Трансплантация сердца пациентам с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией <i>Догонашева А.А., Попцов В.Н.</i>	279
Методы хирургической адаптации трансплантата легких к плевральной полости реципиента <i>Олешкевич Д.О., Готье С.В.</i>	298
Замещение дефекта мочевого пузыря с использованием тканеинженерных конструкций, содержащих аллогенные клетки (экспериментальное исследование) <i>Орлова Н.В., Яблонский П.К., Муравьев А.Н.</i>	321
Лапароскопическое изъятие левого латерального сектора печени у прижизненного донора <i>Сёмаи К.О., Готье С.В.</i>	345
МикроРНК при трансплантации легких: анализ экспрессии и диагностическая эффективность <i>Шарапченко С.О., Шевченко О.П.</i>	370
Материалы диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук	393
Экспериментальные модели тканевых эквивалентов поджелудочной железы <i>Баранова Н.В., Севастьянов В.И.</i>	394
Разработка и исследование биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра, модифицированных RGD-пептидами <i>Сенокосова Е.А., Антонова Л.В.</i>	417

IX. ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ В 2020 г.	445
---	-----

Глубокоуважаемые коллеги!

В 2021 году исполняется 90 лет со дня рождения академика Валерия Ивановича Шумакова. XII том нашей ежегодной антологии отечественной трансплантологии «Трансплантология: итоги и перспективы» посвящен этому знаменательному событию, значимому не только для коллег и учеников, бережно сохраняющих память и развивающих наследие этого великого человека, но и для всего медицинского научного сообщества.

Более 33 лет Валерий Иванович не только был бессменным директором НИИ трансплантологии и искусственных органов (ныне – НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова), но и лидером, проложившим пути, заложившим основы и всей своей жизнью способствовавшим развитию и становлению отечественной трансплантологии.

Центральным событием празднования 90-летия В.И. Шумакова станут юбилейные Шумаковские чтения, которые состоятся в день его рождения, 9 ноября 2021 года, в Национальном медицинском исследовательском центре трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова. Первые Шумаковские чтения прошли 9 ноября 2010 г. в рамках V Всероссийского съезда трансплантологов и были посвящены проблемам сердечно-сосудистой хирургии и трансплантации сердца. С тех пор всероссийские конференции «Шумаковские чтения» стали традиционными: в 2021 году в рамках V Всероссийского конгресса трансплантологов с международным участием состоятся уже XII Шумаковские чтения, посвященные педиатрической трансплантации органов.

Нельзя не отметить еще одну важную и памятную дату, которой отмечен 2021 год и которая также неразрывно связана с именем В.И. Шумакова. Речь идет о 35-летию научной специальности «трансплантология и искусственные органы», к формированию и открытию которой Валерий Иванович приложил много усилий и творческой энергии, и 35-летнем юбилее диссертационного со-

вета при Национальном медицинском исследовательском центре трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова. В 2020 году НМИЦ ТИО им. В.И. Шумакова получил право самостоятельного присуждения ученых степеней, что явилось выражением государственного признания высокого уровня и качества работ по подготовке и аттестации научных кадров и может служить своего рода нерукотворным памятником нашему Учителю. 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.

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. X ВСЕРОССИЙСКИЙ
СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ
(С МЕЖДУНАРОДНЫМ
УЧАСТИЕМ)**

X ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ (С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ)

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

2020 год был особенным – мы все оказались перед необходимостью жить и работать в условиях беспрецедентной по масштабу пандемии, вызванной новой коронавирусной инфекцией SARS-Cov-2.

Большая часть мероприятий – научных, учебных, организационных – проводилась в дистанционном режиме. В интерактивном дистанционном формате 5–7 октября в Москве, в НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова, прошел X съезд трансплантологов с участием специалистов из ведущих федеральных центров, из научных и клинических учреждений регионального уровня, а также дальнего и ближнего зарубежья.



Обложка Программы X Всероссийского съезда трансплантологов

Организаторы, научный комитет съезда приложили все усилия, чтобы это мероприятие, несмотря на непривычный формат, было полноценным и информативным для всех его участников.



Съезд впервые прошел в непривычном для его участников online-формате – в формате видеоконференций. Выступление академика РАН С.В. Готье на открытии съезда

При формировании программы X Всероссийского съезда трансплантологов организаторы постарались наиболее эффективно использовать те возможности, которые представляет формат видеоконференций, и максимально представить хирургические аспекты нашей специальности. Какие бы удивительные открытия ни преподносили нам современная биомедицина, трансплантационная иммунология, регенеративная медицина, биотехнология, нельзя забывать, что в основе трансплантации лежит искусное и высокопрофессиональное действие – перемещение и включение донорского органа в организм реципиента. Видеосессии, мастер-классы, которые позволяют представить все тонкости хирургической трансплантологии, и стали характерной особенностью X съезда трансплантологов. Академик РАН С.В. Готье провел мастер-класс по трансплантации печени «Особенности трансплантационной хирургии».



*Академик РАН С.В. Готье провел мастер-класс по трансплантации печени
«Особенности трансплантационной хирургии»*

О. Soubrane, MD, PhD, руководитель отделения гепатопанкреобилиарной хирургии и трансплантации печени Госпиталя Божон (Париж, Франция) прочитал лекцию «Лапароскопическая гепатэктомия у прижизненного донора».

Мастер-классы, направленные на внедрение и освоение новых методов в трансплантации печени, провели ведущие специалисты из центров Москвы, Санкт-Петербурга, Республики Беларусь – С.И. Зубенко, А.Р. Монахов, О.О. Руммо, А.Е. Скворцов, Д.П. Харьков, А.В. Шабунин.

В программу съезда была включена международная конференция «Трансплантация печени: опыт Востока и Запада», в которой с лекциями и докладами выступили профессора из Франции, Южной Кореи, Саудовской Аравии.

Очередные XI Шумаковские чтения были посвящены вопросам трансплантации органов в условиях пандемии COVID-19.

Беспрецедентная по масштабам и последствиям пандемия, вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2, охватила почти все страны мира; не явилась исключением и Российская Федерация. Нынешний этап развития отечественной трансплантологии характеризуется наличием достаточ-

но большого числа граждан – различного пола, возраста и социального статуса, – перенесших трансплантацию солидных органов. Респициенты сердца, почки, печени, пожизненно получающие иммуносупрессивную терапию и имеющие ряд сопутствующих заболеваний, подвержены риску тяжелых осложнений COVID-19. С другой стороны, новая коронавирусная инфекция в условиях пандемии представляет опасность и для больных тяжелыми хроническими заболеваниями с терминальной стадией поражения жизненно важных органов – потенциальных респициентов. В этих условиях необходимо оценить соотношение потенциальных пользы и риска трансплантации донорского органа. Для решения указанных выше вопросов, как и ряда других, касающихся особенностей клинического течения и лечения коронавирусной инфекции у респициентов органов, под эгидой Российского трансплантологического общества было инициировано национальное многоцентровое исследование «Распространенность и Особенности Клинического течения **КО**Ронавирусной инфекции у **РЕЦИПИЕН**Тов сердца, почки, печени» (**РОККОР-респициент**).



Член-корреспондент РАН А.О. Шевченко представил доклад, посвященный результатам исследования «РОККОР-респициент»

Член-корреспондент РАН А.О. Шевченко представил доклад, посвященный результатам исследования «РОККОР-реципиент».

В рамках Шумаковских чтений участниками из Москвы, Санкт-Петербурга, Казани были представлены клинические случаи, демонстрирующие особенности лечения реципиентов сердца, почки с осложнениями, развившимися на фоне коронавирусной инфекции.

Всероссийская конференция «Донорство органов – проблемы и пути решения» включала обсуждение организационных, нормативных, социогуманитарных проблем донорства органов.

Конференция «Тканевая инженерия и регенеративная медицина», посвященная юбилею заслуженного деятеля науки РФ профессора В.И. Севастьянова, включала серию докладов о последних достижениях в области тканевой инженерии, клеточных технологий, создания биоискусственных органов.



В программу X Всероссийского съезда трансплантологов были включены учебные мероприятия Национальной школы трансплантологии. Участники получили свидетельство государственного образца, подтверждающее получение 12 зачетных единиц (кредитов) в рамках системы непрерывного медицинского образования.

Материалы съезда – около 200 тезисов – традиционно опубликованы в Приложении к журналу «Вестник трансплантологии и искусственных органов».

**II. ДОНОРСТВО
И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
В 2020 ГОДУ
(XIII сообщение регистра
Российского
трансплантологического
общества)**

ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2020 ГОДУ (XIII 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 2009–2020 гг. [1–11].

Данные регистра предоставляются в следующие международные регистры: International Registry of Organ Donation and Transplantation (IRO-DaT); 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 существующего положения дел в трансплантологии, проблем, 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 32 субъектах РФ с общим населением 99,3 млн человек (рис. 1).

В 2020 году, несмотря на эпидемию новой коронавирусной инфекции COVID-19 и связанные с этим ограничительные меры, большинство из 60 функционирующих центров трансплантации продолжали оказывать трансплантационную помощь населению; 11 медицинских организаций, в которых располагаются центры трансплантации, приостанавливали на разные сроки оказание трансплантационной помощи в связи с перепрофилированием (табл. 1).

Трансплантация почки осуществлялась в 44 центрах, трансплантация печени – в 29, трансплантация сердца – в 16, трансплантация поджелудочной железы – в 3, трансплантация легких – в 3, трансплантация тонкой кишки – в 1.

Из 60 центров трансплантации: 19 – это учреждения федерального подчинения, включая 11 учреждений Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2 учреждения Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 4 учреждения Федерального медико-биологического агентства, 2 учреждения Министерства обороны России; 41 – это учреждения субъектов РФ.

В листе ожидания трансплантации почки в течение 2020 г. в РФ состояло 6929 потенциальных реципиентов, то есть 11,5% от общего числа пациентов, получающих лечение гемо- и перитонеальным диализом (приблизительно 60 000). Из них 1433 были включены в лист ожидания в 2020 г. впервые. Показатель смертности в период ожидания трансплантации почки в РФ в 2020 г. составил 1,8% (125 пациентов).

В листе ожидания трансплантации печени в течение 2020 г. состояло 2237 потенциальных реципиентов, из них 780 были включены в лист ожидания впервые в 2020 году. Показатель смертности в период ожидания трансплантации печени в РФ в 2020 г. составил 5,5% (124 пациента).

В листе ожидания трансплантации сердца в течение 2020 г. состояло 708 потенциальных реципиентов, из них 303 были включены в лист ожидания впервые в 2020 году. Показатель смертности в период ожидания трансплантации сердца в России составил 7,5% (53 пациента).

В период 2012–2020 гг. в РФ по мере увеличения числа трансплантаций органов наблюдается увеличение числа пациентов в листах ожида-

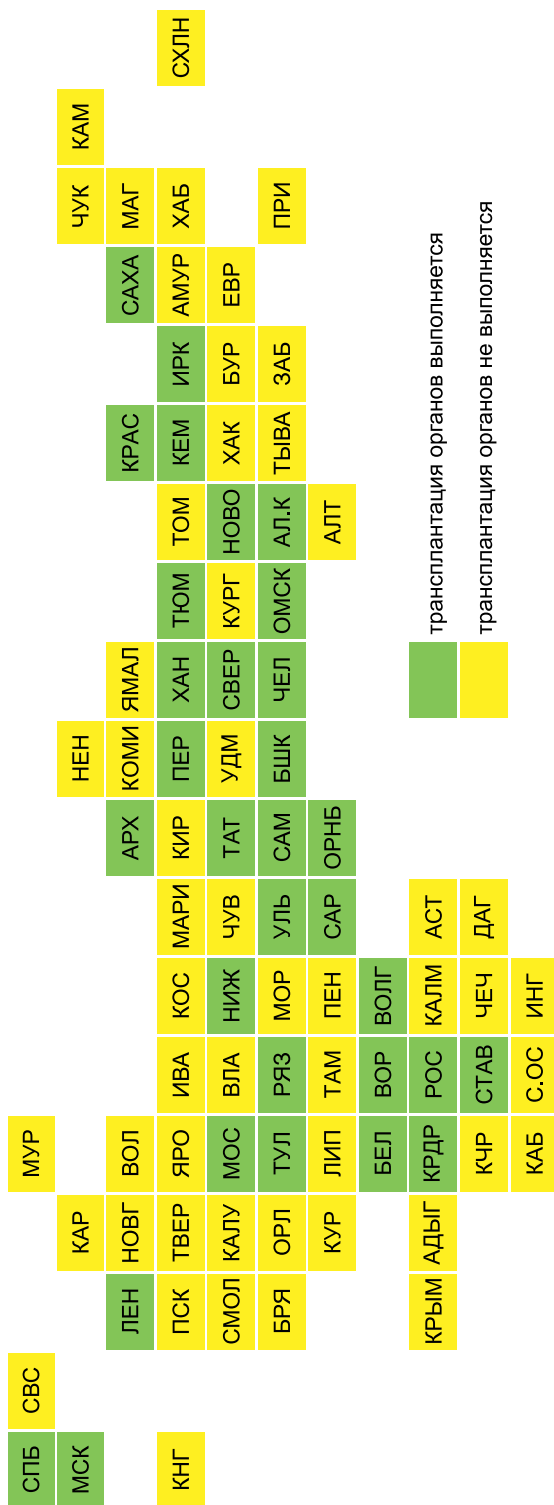


Рис. 1. География центров трансплантации органов в РФ в 2020 году

Таблица 1

**Участие медицинских организаций (центров трансплантации)
в оказании медицинской помощи пациентам с подозрением
или установленным диагнозом COVID-19**

№	Центр трансплантации, регион, федеральный округ	Участие медицинской организации в оказании медицинской помощи пациентам с подозрением или установленным диагнозом COVID-19	Переопределение хирургического отделения, в котором выполняются трансплантации органов, с оставшейся трансплантацией органов
1	2	3	4
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ЦФО	да	нет
2	Филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Волжский, ЮФО	нет	нет
3	«Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» МЗ РФ, Москва, ЦФО	да	да
4	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва, ЦФО	нет	нет
5	ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, ЦФО	нет	нет
6	ФГБУ «Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, ЦФО	да	нет
7	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ, Москва, ЦФО	нет	нет
8	ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва, ЦФО	нет	нет
9	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва, ЦФО	да	нет

Продолжение табл. 1

1	2	3	4
10	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии ДЗМ», Москва, ЦФО	нет	нет
11	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, ЦФО	да	нет
12	ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, ЦФО	нет	нет
13	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область, ЦФО	да	да
14	ФГБУ «Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (КБ № 119), Московская область, ЦФО	да	да
15	ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Минобороны России, Московская область, ЦФО	нет	нет
16	ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, ЦФО	нет	нет
17	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж, ЦФО	да	нет
18	ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница», Тула, ЦФО	да	да
19	ГБУ РО «Рязанская областная клиническая больница», Рязань, ЦФО	да	нет
20	ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, СКФО	да	нет
21	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	да	нет
22	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	да	нет
23	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский, ЮФО	нет	нет
24	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, ЮФО	да	нет
25	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	нет	нет
26	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	да	нет
27	ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	да	нет

Продолжение табл. 1

1	2	3	4
28	ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, СЗФО	да	нет
29	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, СЗФО	да	нет
30	ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, СЗФО	нет	нет
31	СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург, СЗФО	да	да
32	ГБУЗ Архангельской области «Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волосевич», Архангельск, СЗФО	да	нет
33	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО	да	да
34	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, СФО	нет	нет
35	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, СФО	да	нет
36	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, СФО	да	нет
37	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово, СФО	да	нет
38	ГАУЗ «Областная клиническая больница скорой медицинской помощи им. М.А. Подгорбунского», Кемерово, СФО	да	нет
39	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, СФО	да	нет
40	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск, СФО		
41	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, СФО	да	нет
42	ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», Красноярск, СФО	нет	нет
43	ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», Красноярск, СФО	да	да
44	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск, СФО	да	нет
45	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, УФО	да	нет
46	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, УФО	нет	нет
47	ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень, УФО	да	нет

Окончание табл. 1

1	2	3	4
48	БУ «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск, УФО	да	да
49	ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара, ПФО	нет	нет
50	ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов, ПФО	да	да
51	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов, ПФО	да	да
52	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, ПФО	да	нет
53	ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница», Нижний Новгород, ПФО	нет	нет
54	ГАОУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, ПФО	да	нет
55	ГАОУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр», Казань, ПФО	нет	нет
56	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, ПФО	да	нет
57	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа, ПФО	нет	нет
58	ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница», Пермь, ПФО	да	нет
59	ГУЗ «Ульяновский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи им. заслуженного врача России Е.М. Чучалова», Ульяновск, ПФО	да	нет
60	ГБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург, ПФО	да	да

ния: трансплантации почки почти в 2 раза, печени – в 4,6 раза и сердца – в 1,8 раза, при этом средние сроки ожидания трансплантации органов практически не изменились. Смертность в листах ожидания в 2012–2019 гг. имеет тенденцию к снижению, в 2020 г. с учетом эпидемии COVID-19 была выше, чем в 2019 г.

В табл. 2 представлены данные о числе потенциальных реципиентов в листах ожидания в центрах трансплантации.

В 2020 году в России было выполнено 1960 трансплантаций, или 13,4 на 1 млн населения, из них 258 пересадок органов детям (табл. 3 и 4).

Из-за роста заболеваемости COVID-19 в субъектах РФ в ряде субъектов РФ были перепрофилированы медицинские организации, в которых функционируют центры трансплантации, для оказания медицинской помощи пациентам с подозрением или с установленным диагнозом COVID-19.

Таблица 2

Листы ожидания трансплантации органов в субъектах РФ в 2020 году

Федеральный округ, регион, численность населения в 2020 г. (млн чел.)* Вид трансплантации	ПОЧКА																																
	ЦФО								ЮФО			СКФО	СЗФО	СФО								УФО				ПФО							ДФО
	Москва и Московская область	Белгородская область	Воронежская область	Рязанская область	Тульская область	Краснодарский край	Волгодонская область	Ростовская область	Ставропольский край	Санкт-Петербург и Ленинградская область	Архангельская область без Ненецкого АО	Новосибирская область	Кемеровская область	Иркутская область	Омская область	Алтайский край	Красноярский край	Свердловская область	Тюменская область без автономных окрyгов	Ханты-Мансийский АО – Югра	Челябинская область	Самарская область	Саратовская область	Нижегородская область	Республика Татарстан	Республика Башкортостан	Оренбургская область	Пермский край	Ульяновская область	Республика Саха (Якутия)			
1	146,2	12,6	1,5	2,3	1,1	1,5	5,7	2,5	4,2	2,8	5,4	1,1	2,8	2,6	2,4	1,9	2,3	2,8	4,3	1,5	1,7	3,4	3,1	2,4	3,2	3,9	4,0	1,9	2,6	1,2	1,0		
	7,7									1,9																							
	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		
Число центров трансплантации	46	12	1	1	1	1	1	1	1	4	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1		
	1433	736	6	7	0	5	41	0	30	66	4	40	27	19	15	20	49	25	10	13	26	27	15	35	46	44	2	112	4	0			
	6929	2555	48	102	32	15	397	110	122	9	328	70	144	136	70	113	110	189	235	78	153	163	253	123	510	300	241	114	112	35	62		

Продолжение табл. 2

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
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.20 г.	5680	1894	43	86	24	7	372	91	78	0	267	68	120	94	50	87	94	160	224	63	147	146	203	112	486	251	197	110	110	34	62
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2020 г.	125	22	1	9	0	2	0	0	7	0	0	1	1	3	0	25	0	1	2	4	2	13	3	4	10	9	6	0	0	0	0
ПЕЧЕНЬ																															
Число центров трансплантации	31	6	1	0	1	0	2	0	1	1	4	0	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2020 г.	780	473	2	0	0	0	5	0	55	4	32	0	66	9	18	4	7	16	12	6	4	11	2	0	23	20	11	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2020 г.	2237	886	68	0	5	0	51	0	171	4	233	0	101	68	19	4	49	41	109	6	7	38	2	0	202	61	96	0	0	0	16
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.20 г.	1554	437	64	0	4	0	41	0	140	0	209	0	59	59	5	4	45	26	92	2	4	31	2	0	190	39	85	0	0	0	16
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2020 г.	124	56	3	0	0	0	2	0	16	0	0	0	8	0	0	0	0	3	15	1	2	5	0	0	6	2	5	0	0	0	0
СЕРДЦЕ																															
Число центров трансплантации	18	4	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2020 г.	304	157	4	1	0	0	19	0	9	0	34	0	19	16	0	0	7	9	14	0	0	1	0	0	0	8	6	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2020 г.	709	317	14	1	0	0	42	0	25	0	48	0	49	67	0	0	9	35	50	0	0	10	0	0	0	16	26	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.20 г.	404	164	12	0	0	0	22	0	17	0	19	0	25	46	0	0	7	18	34	0	0	8	0	0	0	11	21	0	0	0	0

Окончание табл. 2

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
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2020 г.	53	11	1	0	0	0	1	0	2	0	7	0	9	11	0	0	0	3	5	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
ПОДЖЕЛУДОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА																															
Число центров трансплантации	4	2	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2020 г.	14	10	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2020 г.	114	110	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.20 г.	98	95	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2020 г.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ЛЕГКИЕ																															
Число центров трансплантации	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2020 г.	46	45	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2020 г.	94	93	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.20 г.	76	76	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2020 г.	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* – <http://www.gks.ru>.

Таблица 3

Донорство и трансплантация органов в РФ в 2020 году

Показатель	Количество (абс.)	Показатель на 1 млн населения*
Донорство органов		
Всего доноров органов	890	6,1
Посмертные доноры	564	3,9
Живые (родственные) доноры	326	2,2
Трансплантация органов		
Всего пересажено органов, <i>из них несовершеннолетним</i>	1960 256	13,4
Почка, в т. ч. трупная	1124 967	7,7 6,6
от живого донора <i>из них несовершеннолетним</i>	157 119	1,1
Печень, в т. ч. трупная	559 390	3,8 2,7
от живого донора <i>из них несовершеннолетним</i>	169 131	1,2
Сердце <i>из них несовершеннолетним</i>	251 6	1,7
Поджелудочная железа	16	0,1
Легкие <i>из них несовершеннолетним</i>	11 0	0,1
Тонкая кишка <i>из них несовершеннолетним</i>	1 0	0,0

* – Численность населения РФ в 2020 г. – 146,2 млн чел. (www.gks.ru).

Весной 2020 г. вводились известные ограничения на передвижение граждан, ограничения плановых консультаций и госпитализаций граждан.

Влияние фактора COVID-19 и связанных с этим ограничительных мер отражает ежемесячная статистика трансплантаций органов в 2020 г. (рис. 2, 3).

В 2020 году высокотехнологичная медицинская помощь по трансплантации органов финансировалась в полном объеме. По данным Федерального регистра по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи, в 2020 г. за счет средств системы обязательного медицинского страхования, предусмотренных для оказания высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация», было выполнено 1842 (94,0%) трансплантации органов (в 2019 г. – 2119; 87,3%), рис. 4.

Таблица 4

Трансплантационная активность центров РФ в 2020 году

№	Центр трансплантации, регион, федеральный округ	Всего	Почка (всего)	Почка трупная	Почка родств. (всего)	Печень (всего)	Печень трупная	Печень родств. (всего)	Сердце	Поджелудочная железа	Легкие	Комплекс «сердце-легкие»	Тонкая кишка
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ЦФО	563	198	134	64	165	57	108	190	2	6	2	0
2	Филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Волжский, ЮФО	8	8	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0
3	«Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина» – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» МЗ РФ, Москва, ЦФО	28	28	22	6	0	0	0	0	0	0	0	0
4	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва, ЦФО	30	30	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва, ЦФО	21	13	6	7	8	1	7	0	0	0	0	0
6	ФГБУ «Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, ЦФО	59	12	10	2	47	10	37	0	0	0	0	0

Продолжение табл. 4

7	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ, Москва, ЦФО	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва, ЦФО	34	34	8	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва, ЦФО	110	75	75	0	35	35	0	0	0	0	0	0	0
10	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии ДЗМ», Москва, ЦФО	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, ЦФО	333	198	196	2	118	117	1	1	13	2	0	1	
12	ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, ЦФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область, ЦФО	54	36	35	1	17	14	3	1	0	0	0	0	0
14	ФГБУ «Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (КБ № 119), Московская область, ЦФО	8	8	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Минобороны России, Московская область, ЦФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Продолжение табл. 4

16	ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Свяителя Иоасафа», Белгород, ЦФО	5	4	4	0	1	1	0	0	0	0	0
17	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж, ЦФО	8	7	7	0	0	0	0	1	0	0	0
18	ГУЗ ТО «Тульская областная клиническая больница», Тула, ЦФО	6	6	3	3	0	0	0	0	0	0	0
19	ГБУ РО «Рязанская областная клиническая больница», Рязань, ЦФО	9	8	8	0	1	1	0	0	0	0	0
20	ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, СКФО	13	9	9	0	4	3	1	0	0	0	0
21	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	33	22	22	0	7	7	0	4	0	0	0
22	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
23	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский, ЮФО	19	19	18	1	0	0	0	0	0	0	0
24	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, ЮФО	56	37	37	0	15	14	1	3	1	0	0
25	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	17	0	0	0	17	17	0	0	0	0	0
26	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	18	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0

Продолжение табл. 4

27	ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	18	15	9	6	2	2	0	0	0	1	0	0
28	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
29	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, СЗФО	20	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, СЗФО	3	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0
31	СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург, СЗФО	6	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	ГБУЗ Архангельской области «Первая городская клиническая больница им. Е.Е. Волосевич», Архангельск, СЗФО	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, СФО	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
35	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, СФО	57	23	21	2	34	24	10	0	0	0	0	0
36	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, СФО	7	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0
37	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово, СФО	39	39	38	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Продолжение табл. 4

38	ГАУЗ «Областная клиническая больница скорой медицинской помощи им. М.А. Подгорбунского», Кемерово, СФО	9	0	0	0	0	9	9	0	0	0	0	0
39	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, СФО	34	20	19	1	14	14	0	0	0	0	0	0
40	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск, СФО	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, СФО	20	16	16	0	4	4	0	0	0	0	0	0
42	ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», Красноярск, СФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43	ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», Красноярск, СФО	14	12	12	0	2	2	0	0	0	0	0	0
44	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск, СФО	29	16	16	0	10	10	0	3	0	0	0	0
45	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, УФО	17	9	9	0	5	5	0	3	0	0	0	0
46	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, УФО	7	4	4	0	2	2	0	1	0	0	0	0
47	ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень, УФО	14	11	11	0	3	3	0	0	0	0	0	0
48	БУ «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск, УФО	5	4	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0
49	ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара, ПФО	47	47	47	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Окончание табл. 4

50	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	0	0	0
51	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов, ПФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, ПФО	20	14	8	6	6	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0
53	ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница», Нижний Новгород, ПФО	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
54	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, ПФО	60	40	34	6	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55	ГБУЗ «Межрегиональный клинко-диагностический центр», Казань, ПФО	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
56	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, ПФО	44	38	38	0	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа, ПФО	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
58	ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая больница», Пермь, ПФО	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	ГУЗ «Ульяновский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи им. заслуженного врача России Е.М. Чучкалова», Ульяновск, ПФО	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	ГБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург, ПФО	4	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Итого		1960	1124	967	157	559	390	169	249	16	9	2	1			

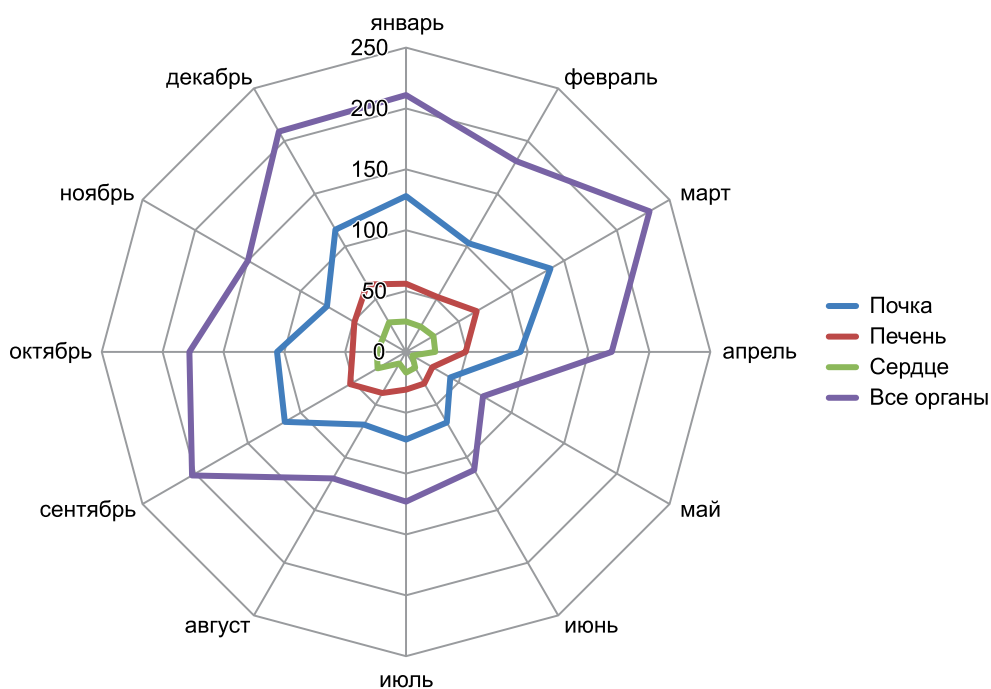


Рис. 2. Число трансплантаций органов по месяцам в 2020 году

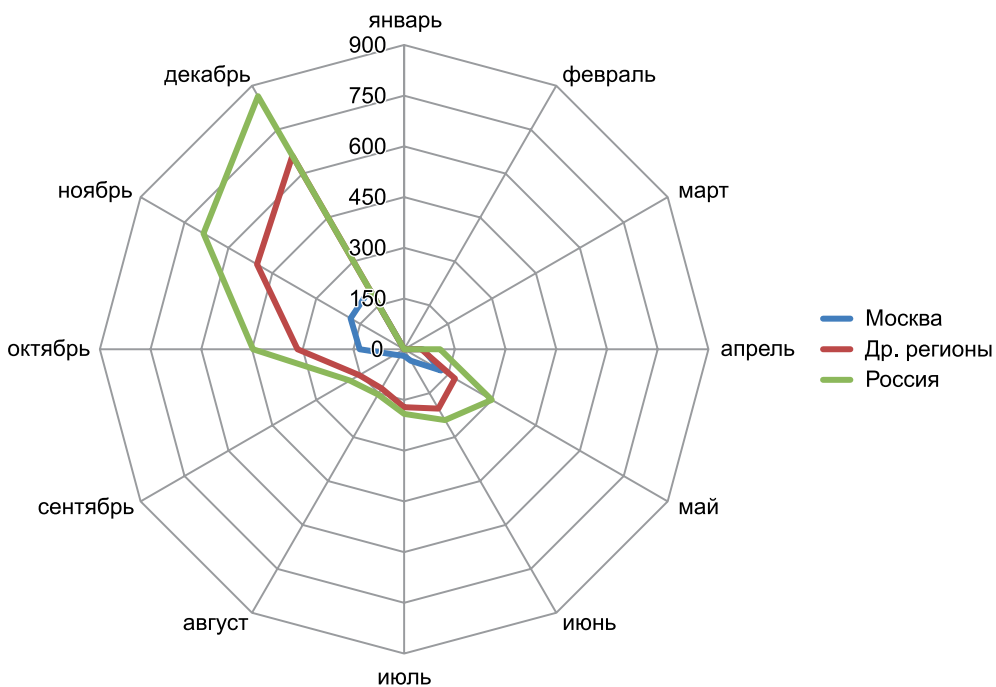


Рис. 3. Заболеваемость COVID-19 по месяцам в 2020 году

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 2,3 раза, при этом доля трансплантаций органов, выполненных за счет указанных средств, возросла на 35,8%.

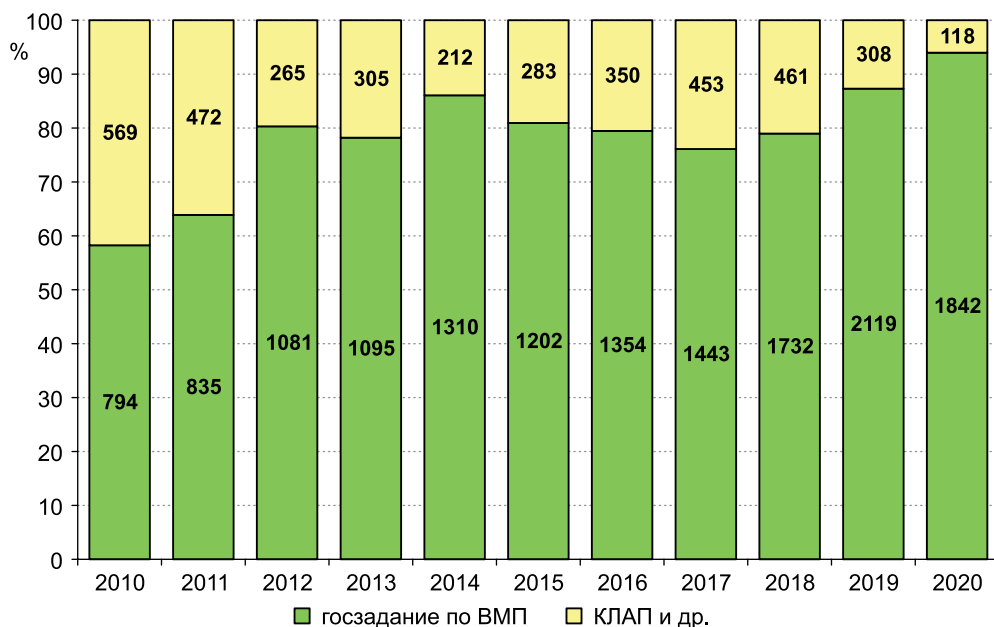


Рис. 4. Финансирование трансплантаций органов в РФ в 2010–2020 г.

Нормативы финансовых затрат на единицу объема предоставления высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» в 2020 году составили:

- для трансплантации почки, поджелудочной железы, почки и панкреатодуоденального комплекса, тонкой кишки, легких – 950,896 тыс. руб.;
- для трансплантации сердца, печени – 1206,336 тыс. руб.;
- для трансплантации комплекса «сердце–легкие» – 1723,623 тыс. руб.

(Постановление Правительства РФ от 7 декабря 2019 года № 1610).

Донорство органов

В 2020 году донорские программы осуществлялись в 31 (из 85) субъекте РФ с населением 98,3 млн человек. В Пермском крае, Ульяновской

области и Саратовской области выполнялись только трансплантации почки от живого родственного донора.

Число эффективных посмертных доноров в 2020 г. составило 564, или 3,9 на 1 млн населения (табл. 5).

В 2020 году в части больниц, участвующих в донорском обеспечении центров трансплантации, отделения реанимации и интенсивной терапии были перепрофилированы для оказания медицинской помощи пациентам с тяжелым течением COVID-19.

Прошедший год продолжил тенденцию увеличения доли эффективных доноров органов старше 60 лет, в 2020 г. она превысила 20%. Доноров-мужчин было 73,0%; доноров-женщин – 27%. Возрастная структура эффективных доноров органов представлена на рис. 5.

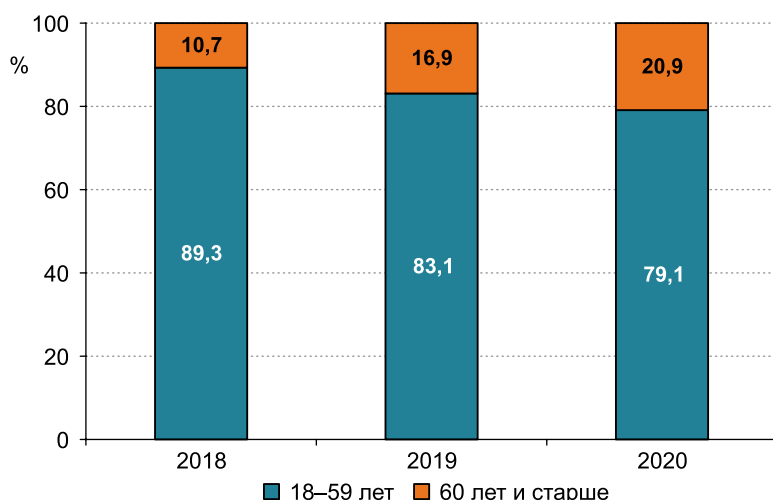


Рис. 5. Возрастная структура эффективных доноров органов в 2018–2020 гг.

Донорская активность в расчете на численность населения регионов, реализующих донорские программы (95,9 млн), составила 5,9 на 1 млн населения (табл. 6, 7). Стабильно высокий показатель донорской активности европейского уровня сохранился в Москве (20,9), также устойчиво сохранялись показатели в Кемеровской области (10,0), Самарской области (7,5), Иркутской области (6,7). Ленинградской области (6,1). На долю Москвы и Московской области в 2020 г. приходится 50,3% (284) эффективных доноров.

В 2020 году продолжилось расширение практики констатации смерти мозга. Число эффективных доноров с диагнозом «смерть мозга» составило 547, их доля в общем пуле эффективных доноров составила 97,0% (в 2019 г. – 94,5%), рис. 6.

Таблица 5

Показатели, связанные с донорской активностью в регионах РФ в 2020 г.

№ пп.	Регион	Центр координации органа 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 «количество органов / количество доноров»	Процент заготовленных почек
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
1	Москва	Московский координационный центр органа донорства, Москва (ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы»)	12,6	17	263	20,9	260	98,9	219	83,3	857	457	3,3	86,9			
2	Московская область	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва	7,5	33	21	2,8	21	100,0	20	95,2	54	42	2,6	100,0			
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	10	4	1,7	4	100,0	1	25,0	9	7	2,3	87,5			

Продолжение табл. 5

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	1,5	1	3	2,0	3	100,0	3	100,0	11	6	3,7	100,0
6	Рязанская область	ГБУ РО «Рязанская областная клиническая больница», Рязань	1,1	1	6	5,5	6	100,0	5	83,3	19	12	3,2	100,0
7	Краснодарский край	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	5,6	2	13	2,3	13	100,0	9	69,2	35	22	2,7	84,6
8	Волгоградская область	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский	2,5	11	10	4,0	10	100,0	0	0,0	20	20	2,0	100,0
9	Ростовская область	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	4,2	1	18	4,3	18	100,0	14	77,8	53	35	2,9	97,2
10	Ставропольский край	ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь	2,8	1	13	4,6	13	100,0	11	84,6	37	26	2,8	100,0
11	Санкт-Петербург	Центр органного и тканевого донорства, Санкт-Петербург (ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе»)	5,4	14	25	4,6	25	100,0	22	88,0	69	33	2,8	66,0
12	Ленинградская область	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург	1,8	1	11	6,1	11	100,0	7	63,6	29	22	2,6	100,0
13	Архангельская область	ГБУЗ Архангельской области «Первая ГКБ им. Е.Е. Волосевич», Архангельск	1,1	1	1	0,9	1	100,0	1	100,0	3	2	3,0	100,0

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
14	Новосибирская область	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	2,8	10	15	5,4	15	100,0	11	73,3	32	15	2,1	50,0
15	Кемеровская область	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово	2,7	15	27	10,0	18	66,7	17	63,0	70	44	2,6	81,5
16	Иркутская область	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск	2,4	1	16	6,7	15	93,8	13	81,3	32	19	2,0	59,4
17	Омская область	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск	1,9	2	2	1,1	2	100,0	1	50,0	3	2	1,5	50,0
18	Алтайский край	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул	2,3	1	9	3,9	9	100,0	9	100,0	27	18	3,0	100,0
19	Красноярский край	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск	2,9	12	10	3,4	10	100,0	9	90,0	29	17	2,9	85,0
20	Свердловская область	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург	4,3	8	6	1,4	6	100,0	5	83,3	19	11	3,2	91,7
21	Челябинская область	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск	3,5	1	3	0,9	3	100,0	2	66,7	9	6	3,0	100,0
22	Тюменская область	ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень	1,5	1	5	3,3	5	100,0	3	60,0	14	10	2,8	100,0
23	Ханты-Мансийский автономный округ – Югра	БУ «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск	1,7	8	3	1,8	3	100,0	2	66,7	8	6	2,7	100,0

Окончание табл. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
24	Самарская область	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗСР РФ, Самара	3,2	5	24	7,5	20	83,3	4	16,7	52	48	2,2	100,0
25	Саратовская область	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов	2,4	1	0	0,0	0	–	0	–	0	0	–	–
26	Нижегородская область	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород	3,2	9	5	1,6	5	100,0	4	80,0	16	8	3,2	80,0
27	Республика Татарстан	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	3,9	2	21	5,4	21	100,0	19	90,5	57	34	2,7	81,0
28	Республика Башкортостан	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа	4,1	12	18	4,4	18	100,0	6	33,3	46	36	2,6	100,0
29	Оренбургская область	МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург	2,0	2	1	0,5	1	100,0	1	100,0	3	2	3,0	100,0
30	Республика Саха (Якутия)	ГАУ РС (Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск	1,0	1	0	0,0	0	–	0	–	0	0	–	–
31	Ведомственная программа ФМБА России	ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва	–	28	1	–	1	100,0	0	0,0	1	0	1,0	0,0
32	Ведомственная программа ФМБА РФ	ФГБУ «Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России», Красноярск	–	5	8	–	8	100,0	2	25,0	17	14	2,1	87,5
		Всего	146,2	218	564	3,9	547	97,0	421	74,6	1636	978	2,9	86,7

Таблица 6

Рейтинг регионов по донорской активности в 2020 году

Субъект РФ (регион)	Население в 2020 г., млн	Число эффективных доноров на 1 млн населения		Рейтинг		Изм. № в рейтинге
		2020 г.	2019 г.	2020 г.	2019 г.	
Москва	12,6	20,9	22,0	1	1	нет
Кемеровская область	2,7	10,0	14,8	2	2	нет
Самарская область	3,2	7,5	7,8	3	7	+4
Иркутская область	2,4	6,7	6,7	4	8	+4
Ленинградская область	1,8	6,1	3,9	5	19	+14
Рязанская область	1,1	5,5	11,8	6	3	–3
Новосибирская область	2,8	5,4	8,2	7	6	–1
Республика Татарстан	3,9	5,4	3,8	8	20	+12
Воронежская область	2,3	5,4	3,5	9	22	+13
Санкт-Петербург	5,4	4,6	9,8	10	4	–6
Ставропольский край	2,8	4,6	1,1	11	29	+18
Республика Башкортостан	4,1	4,4	5,9	12	9	–3
Ростовская область	4,2	4,3	5,0	13	13	нет
Волгоградская область	2,5	4,0	4,0	14	18	+4
Красноярский край*	2,9	3,4	4,5	15	15	нет
Тюменская область	1,5	3,3	8,7	16	5	–11
Московская область	7,5	2,8	5,5	17	12	–5
Краснодарский край	5,6	2,3	4,1	18	17	–1
Тульская область	1,5	2,0	1,3	19	27	+8
ХМАО – Югра	1,7	1,8	2,9	20	25	+5
Республика Саха (Якутия)	1	1,7	3,0	21	24	+3
Нижегородская область	3,2	1,6	3,8	22	21	–1
Алтайский край	2,3	1,6	3,5	23	23	нет
Свердловская область	4,3	1,4	5,6	24	10	–14
Белгородская область	1,5	1,3	2,7	25	26	+1
Омская область	1,9	1,1	1,1	26	30	+4
Архангельская область	1,1	0,9	4,5	27	14	–13
Челябинская область	3,5	0,9	1,1	28	28	нет
Оренбургская область	2	0,5	5,5	29	11	–18
Саратовская область	2,4	0,0	4,2	30	16	–14
Россия (85 субъектов РФ)	146,2	3,9	5,0	–	–	

* Без учета донорской программы ФСКНЦ ФМБА, Красноярск.

Динамика числа посмертных доноров органов в период 2006–2020 гг.

№ пп.	Регион	2006	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020			
		Число эффективных доноров	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		
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		
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		
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		
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		
5	Тульская область																										2	+2	3	+1		
6	Рязанская область																								2	+2	13	+11	6	-7		
7	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		
8	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		
9	Ростовская область																		1	+1	7	+6	13	+6	19	+6	21	+2	18	-3		
10	Ставропольский край																										2	+2	3	+1	13	+10
11	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		
12	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		
13	Архангельская область																										5	+5	5	0	1	-4

Окончание табл. 7

	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
14	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	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	
16	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	
17	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	
18	Алтайский край														3	+3	5	+2	4	-1	4	0	8	+4	8	0	8	0	9	+1	
19	Красноярский край																3	+3	6	+3	18	+12	27	+9	16	прим.	13	-3	10	-3	
20	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	
21	Челябинская область								6	+6	2	-4	7	+5	6	-1	10	+4	9	-1	11	+2	8	-3	4	-4	4	0	3	-1	
22	Тюменская область																							4	+4	13	+9	13	0	5	-8
23	ХМАО – Югра																							3	+3	4	+1	5	+1	3	-2
24	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	
25	Саратовская область															4	+4	7	+3	7	0	7	0	7	0	8	+1	10	+2	0	-10
26	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	
27	Республика Татарстан		3	+3	1	-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	
28	Республика Башкортостан								2	+2	7	+5	14	+7	18	+4	19	+1	14	+5	20	+6	22	+2	20	-2	24	+4	18	-6	
29	Оренбургская область																		3	+3	8	+5	9	+1	8	-1	11	+3	1	-10	
30	Республика Саха (Якутия)																				2	+2	4	+2	4	0	3	-1	0	-3	
31	ФМБА, Москва															6	+6	11	+5	14	+3	16	+2	9	-7	5	-4	1	-4	1	0
32	ФМБА, Красноярск																									24	прим.	16	-8	8	-8
ИТОГО в РФ		225	300	+75	364	+64	381	+17	487	+106	470	-17	412	-58	420	+8	465	+45	434	-31	499	+53	565	+78	639	+74	732	+93	564	-168	

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

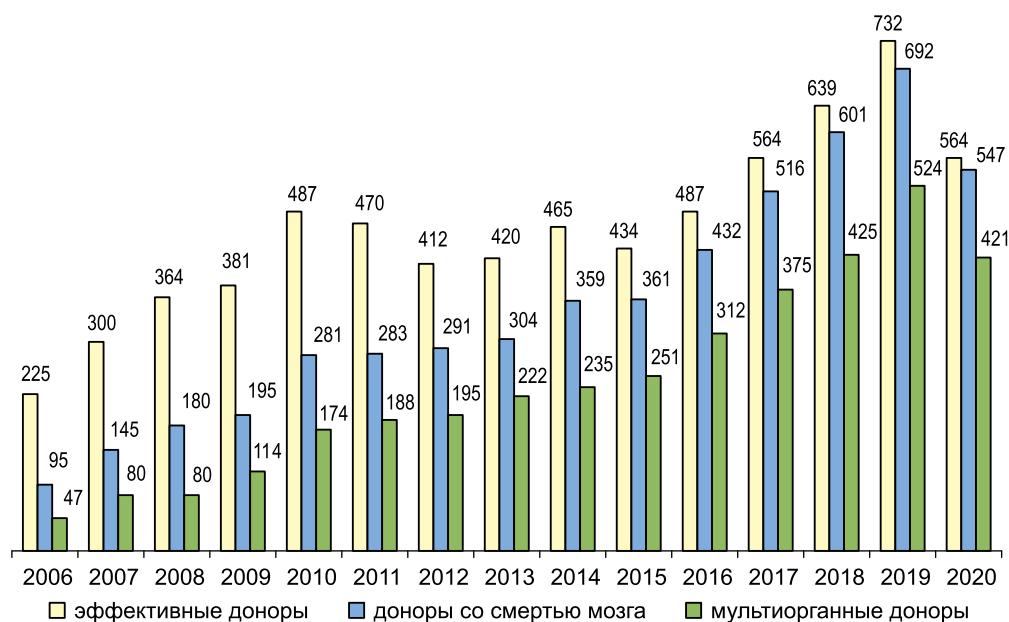


Рис. 6. Структура эффективных доноров органов в РФ в 2006–2020 гг.

В стране отсутствуют донорские программы, не использующие протокол диагностики смерти человека на основании диагноза «смерть мозга». В 24 субъектах РФ донорские программы работали только с донорами с диагнозом «смерть мозга». В Кемеровской области, которая отстает по данному показателю от других регионов, отмечается последовательное увеличение доли доноров со смертью мозга: 2018 г. – 36,7%, 2019 г. – 47,5%; 2020 г. – 66,7%.

В 2020 году всего было выполнено 421 мультиорганное изъятие, доля мультиорганных изъятий при этом составила 74,6%. Для сравнения: в 2019 году их доля составила – 71,8%. 16 донорских программ были реализованы с высокой долей мультиорганных изъятий (более 70%), причем 4 из них с результатом 100%.

Вклад донорских программ Москвы и Московской области по числу мультиорганных доноров в 2020 году составил 239, или 56,8% от общего числа мультиорганных доноров в стране.

Среднее количество органов, полученное от одного донора, осталось на уровне 2019 и 2018 годов и составило 2,9. Лучшие значения этого показателя наблюдались, как и прежде, в регионах, где проводится трансплантация экстраренальных органов и (или) осуществляется межрегиональная координация: Тульская область (3,7), Москва (3,3), Рязанская область (3,2), Свердловская область (3,2), Нижегородская область (3,2).

Низкий показатель зафиксирован в Омской (1,5), Волгоградской (2,0) и Иркутской (2,0) областях.

В 2020 г. показатель использования донорских почек составил 86,7%. В 17 регионах этот показатель находился в оптимальном диапазоне значений 90–100%, в 7 регионах – между 80–90% и в 4 программах составил менее 80% (Санкт-Петербург – 66,0%; Новосибирская область – 50,0%; Иркутская область – 59,4%; Омская область – 50,0%).

Таким образом, при снижении на фоне эпидемии числа эффективных доноров показатели эффективности работ по донорству, а именно доля доноров с диагнозом «смерть мозга», доля мультиорганных доноров, среднее число органов, трансплантированных от одного эффективного донора, не ухудшились. Случаев передачи COVID-19 от донора реципиенту не зафиксировано.

В 2020 году число изъятий органов от живых родственных доноров составило 326, или 36,6% от общего числа изъятий 890.

Трансплантация почки

В 2020 году всего было выполнено 1124 трансплантации почки (7,7 на 1 млн населения), рис. 7.

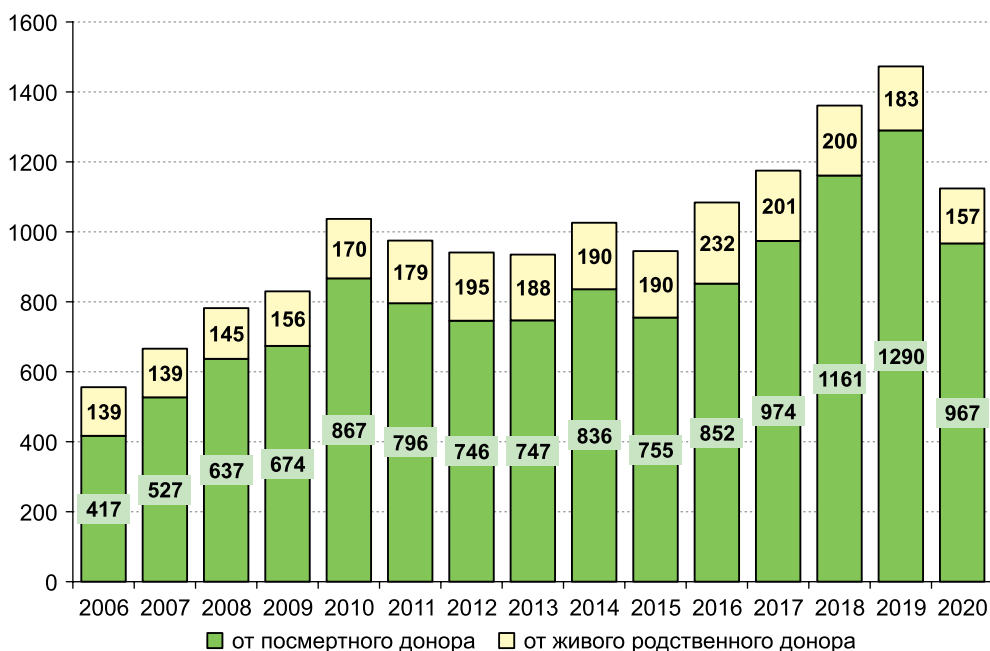


Рис. 7. Трансплантация почки в РФ в 2006–2020 гг.

Число трансплантаций почки от посмертного донора в 2020 г. составило 967, или 6,6 на 1 млн населения. Число трансплантаций почки от живого родственного донора составило 157, или 1,1 на 1 млн населения.

В табл. 8 и на рис. 8 представлены центры трансплантации почки, в которых было сделано наибольшее число пересадок почки по итогам 2020 года.

Рейтинг прежде всего демонстрирует лидерство и устойчивость трансплантационных программ ведущих центров трансплантации в столице, что, в свою очередь, является следствием эффективной работы МКЦОД. Также следует отметить положительную динамику развития трансплан-

Таблица 8

Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций почки

Ранг	Центры – лидеры по числу трансплантаций почки	Число пересадок почки в 2020 г.
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва	206
2	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва	198
3	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва	75
4	ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара	47
5	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	40
6	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», Кемерово	39
7	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа	38
8	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	37
9	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область	36
10	ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва	34
	ИТОГО	750
	66,7% от общего числа пересадок почки в РФ (1124)	

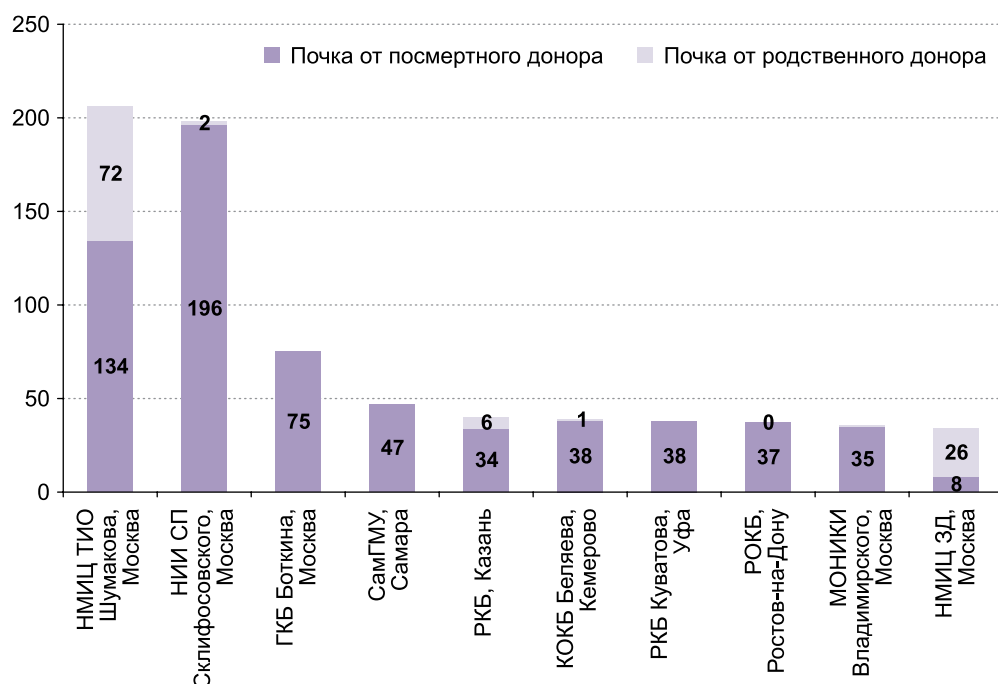


Рис. 8. Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций почки

тационных программ Самарской области и Ростовской области. Негативное влияние COVID-19 в большей степени отразилось на показателях Кемеровской области, Санкт-Петербурга, Московской области. Общая трансплантационная активность в представленных 10 ведущих центрах трансплантации почки составляет 750.

В 2020 г. лишь 3 центра трансплантации почки выполнили более 50 операций за год – это НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (206), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (198) и ГКБ им. С.П. Боткина (75). От 30 до 49 операций за год сделали 8 центров, еще 10 центров выполнили от 15 до 29, остальные 23 центра, или 52,3% – менее 15 трансплантаций почки.

В 2020 году 20 центров из 44 выполняли родственные трансплантации почки, всего было проведено 157 трансплантаций, 72 из них в НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова. Средняя частота использования прижизненного донорства почки в 2020 г. составила 13,4% от общего числа трансплантаций почки (в 2019 г. – 12,4%).

Трансплантации почки детям (несовершеннолетним) в 2020 г. выполнялись в 8 центрах, всего было проведено 119 пересадок почки (2019 г. –

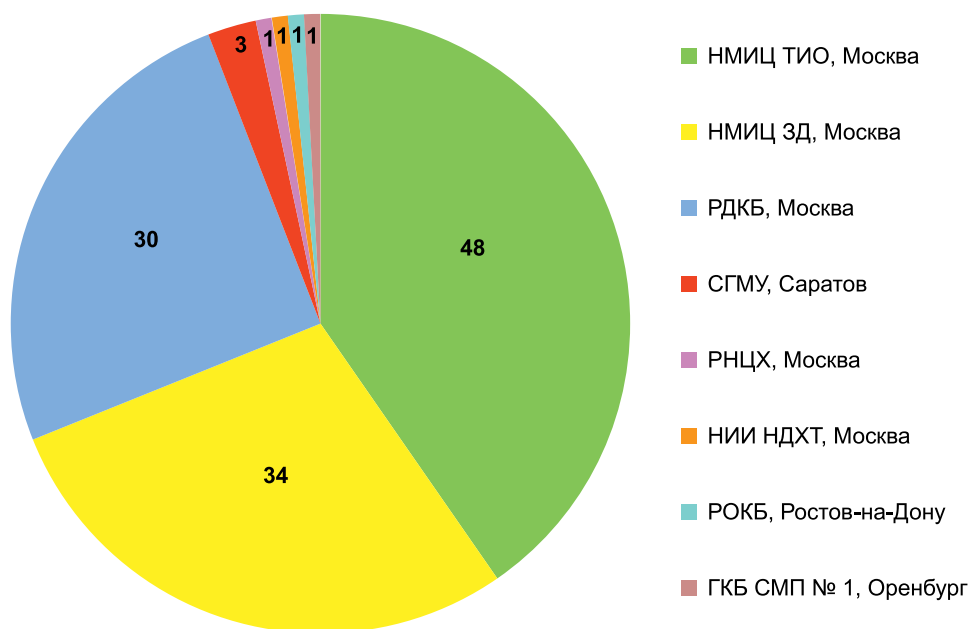


Рис. 9. Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в РФ в 2020 году

101), из них 114 (94,2%) в Москве, в том числе в НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (48), в НМИЦ здоровья детей (34), в РДКБ (30), рис. 9.

Трансплантация экстраренальных органов

В 2020 г. была выполнена 251 трансплантация сердца (1,7 на 1 млн населения), из них 6 пересадок детям (несовершеннолетним). Трансплантации сердца выполнялись в 16 центрах.

На долю НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (Москва) приходится 75,7% (190) от общего числа трансплантаций сердца в РФ. Программа трансплантации сердца в данном центре продолжает определять уровень доступности данного вида трансплантационной помощи в стране.

Если в 2019 году 7 центров трансплантации сделали 10 и более трансплантаций сердца, то в 2020 году только 2 – это НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (190) и НМИЦ им. В.А. Алмазова (18). НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (Москва), Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского (Краснодар), СОКБ № 1 (Екатеринбург), НИИ КП ССЗ (Кемерово) в условиях эпидемии сохранить трансплантационную активность не смогли.

Трансплантации легких в 2020 г. выполнялись в 3 центрах трансплантации, всего было выполнено 9 пересадок легких: в НМИЦ ТИО им. акад.

В.И. Шумакова – 6 пересадок легких, в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского – 2 пересадки, СПбМУ им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург) – 1. В НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова также было сделано 2 трансплантации комплекса «сердце–легкие».

В табл. 9 и на рис. 10 представлены центры трансплантации торакальных органов, в которых было сделано наибольшее число пересадок сердца и легких по итогам 2020 года.

В 2020 г. всего было выполнено 559 трансплантаций печени (3,8 на 1 млн населения). Трансплантации печени выполнялись в 29 центрах.

Таблица 9

Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций торакальных органов

Ранг	Центры – лидеры по числу трансплантаций сердца	Число пересадок сердца в 2020 г.
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва	190
2	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург	18
3	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово	7
4	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск	5
5	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	4
6	ГБУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр», Казань	4
7	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа	4
8	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ, Москва	3
9	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	3
10	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск	3
	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург	3
	ИТОГО	244
	98,0% от общего числа пересадок сердца в РФ (249)	

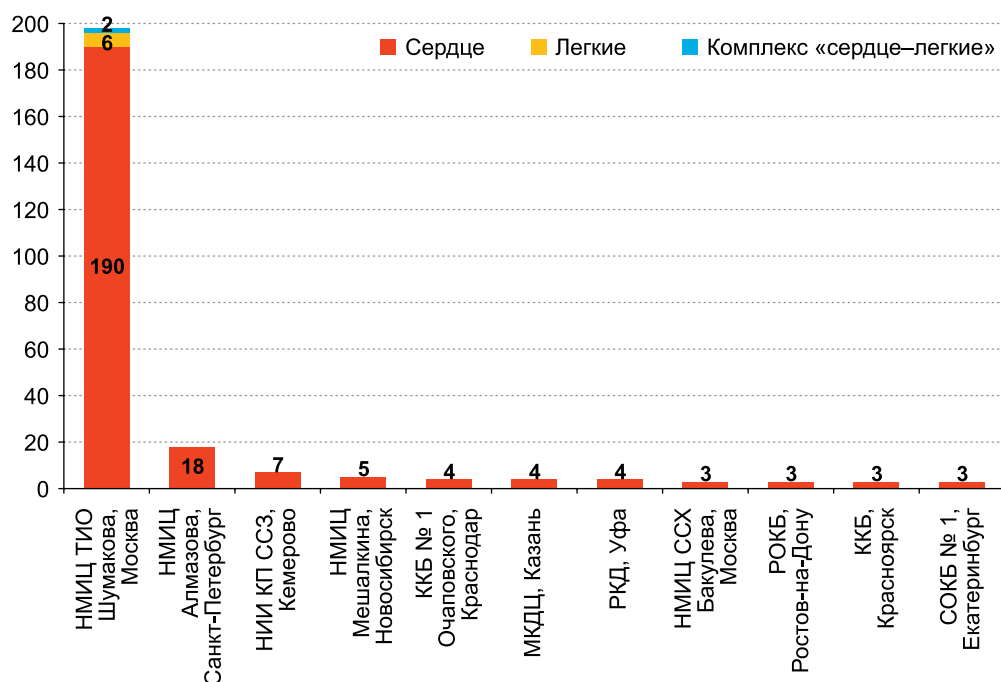


Рис. 10. Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций торакальных органов

В 2020 г. была открыта новая программа трансплантации печени – в ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», Тюмень, сделано 3 пересадки печени от посмертного донора. В РКБ Казани наблюдается активизация трансплантационной программы печени, число пересадок в 2020 г. в сравнении с 2019 г. увеличилось на 53,8% – до 20. В 2020 г. 6 центров трансплантации выполнили 20 и более пересадок печени каждый: НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (165); НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (118); ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна (47); ГКБ им. С.П. Боткина (35); ГНОКБ (34); РКБ, Казань (20).

Доля центров трансплантации Москвы (6) в трансплантации печени в 2020 г. составила 69,8% (390 пересадок); в 2019 г. – 64,4% (376 пересадок).

В табл. 10 и на рис. 11 представлены центры трансплантации печени, в которых было сделано наибольшее число пересадок печени по итогам 2020 года.

Рейтинг демонстрирует относительную устойчивость программ в представленных ведущих центрах трансплантации печени; больше других негативное влияние фактора COVID-19 отразилось на активности ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1» (Ека-

Таблица 10

Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций печени

Ранг	Центры – лидеры по числу трансплантаций печени	Число пересадок печени в 2020 г.
1	ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва	165
2	ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва	118
3	ФГБУ «Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва	47
4	ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ», Москва	35
5	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	34
6	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	20
7	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Московская область	17
8	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова» МЗ РФ, Санкт-Петербург	17
9	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону	15
10	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск	14
	ИТОГО	482
	86,2% от общего числа пересадок печени в РФ (559)	

теринбург). Общая трансплантационная активность составляет 482, что оказалось больше, чем было в рейтинге 2019 г. (474, +8).

Родственные трансплантации печени осуществлялись в 9 центрах, доля трансплантаций от живых родственных доноров составила 169 (30,2%). В 2019 г. было 8 центров, которые выполнили 147 родственных пересадок печени (25,2%).

В 2020 г. была выполнена 131 пересадка печени детям (в основном раннего возраста); в 2019 г. – 113. Трансплантации печени детям выпол-

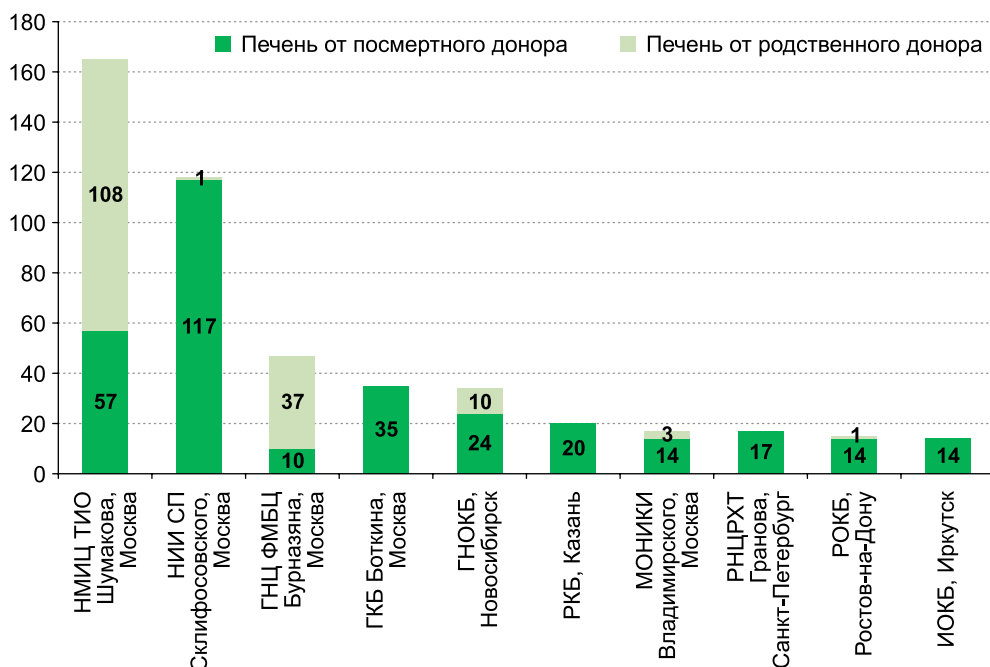


Рис. 11. Медицинские организации – лидеры по числу трансплантаций печени

нялись в 3 центрах: НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (120), РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского (8) и ГНОКБ (3).

Трансплантации поджелудочной железы в 2020 г. осуществлялись в 3 центрах трансплантации: НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова (2), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (13), РОКБ, Ростов-на-Дону (1). Всего было сделано 16 пересадок поджелудочной железы (в 2019 г. – 10), из них вместе с почкой – 16.

Таким образом, число экстраренальных трансплантаций в 2020 г. составило 836, или 42,6% от общего числа трансплантаций 1960. За период наблюдения с 2006 г. (106) число трансплантаций экстраренальных органов в РФ увеличилось на 730 (в 7,9 раза), рис. 12. Доля экстраренальных трансплантаций от общего числа трансплантаций увеличилась при этом на 26,7%.

Вклад центров трансплантации Москвы и Московской области в трансплантацию экстраренальных органов остается определяющим и в 2020 г. составил 605 пересадок (72,4%).

В табл. 11 представлены данные о динамике числа трансплантаций органов в РФ за 2006–2020 гг.

Таблица 11

Трансплантация органов в России в период 2006–2020 гг.

№ пп	Орган	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016		2017		2018		2019		2020	
		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	+207	975	-62	941	-34	935	-6	1026	+91	945	-81	1084	+139	1175	+91	1361	+186	1473	+112	1124	-349		
2	в том числе трунная	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		
3	от живого родственно-го донора	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		
4	Печень всего	88	+29	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		
5	в том числе трунная	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		
6	от живого родственно-го донора	45	+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		
7	Сердце	11	+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		
8	Подже-лудочная железа	6	+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		
9	Легкие	1	-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		
10	Комплекс «сердце–легкие»									2	+2	2	0	1	-1	0	-1	0	0	0	0	0	0	3	+3	2	-1	2	0		
11	Тонкая кишка													1	+1	1	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	1	+1			
	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		

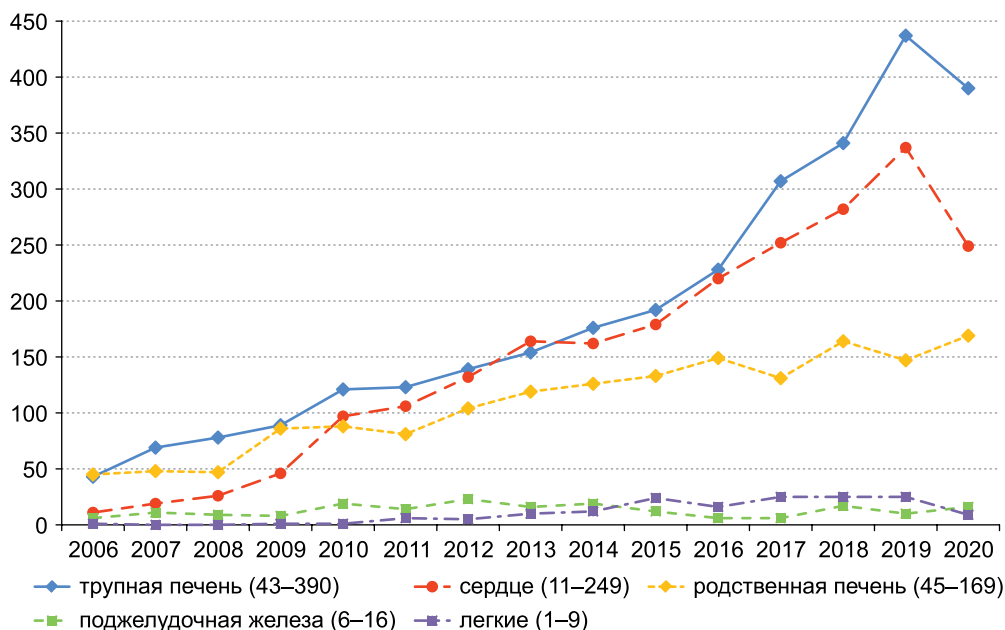


Рис. 12. Трансплантация экстрапочечных органов в 2006–2020 гг.

Пациенты с трансплантированными органами

Согласно данным Федерального регистра в РФ, в 2020 г. было 19 097 пациентов с трансплантированными органами (130,6 на 1 млн населения); из них после трансплантации почки – 12 563 (85,9 на 1 млн), после трансплантации печени – 3489 (23,9 на 1 млн), после трансплантации сердца – 1524 (10,4 на 1 млн). С 2013 г. (за 7 лет) число пациентов с трансплантированными органами в РФ увеличилось на 1044 (123,3%).

Сведения о числе пациентов с трансплантированными органами в РФ с 2013 г. по 2020 г. из Федерального регистра Минздрава России (см. Распоряжение Правительства РФ от 23 октября 2017 г. № 2323-р; Постановление Правительства РФ № 404 от 26.04.2012 г.), представлены в табл. 12.

Заключение

В прошедшем году трансплантационная помощь оказалась под сильным негативным влиянием принципиально новой проблемы, а именно эпидемии коронавирусной инфекции COVID-19. Особенности и результаты работы центров трансплантации в 2020 году связаны именно с этим фактором. И основной вывод, который должен быть сделан по итогам 2020 года, заключается в том, что COVID-19 по общему правилу не должен рассматриваться в качестве основания для остановки трансплантации-

Таблица 12

Число пациентов с трансплантированными органами в РФ в 2013–2020 гг.

Код МКБ-X	Число пациентов в регистре, чел.														
	2013 г.	2014 г.		2015 г.		2016 г.		2017 г.		2018 г.		2019 г.		2020 г.	
		абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)	абс.	изм. (%)		
Z94.0 Наличие трансплантативной почки	6651	7502	12,8	8164	8,8	9063	11,0	9658	6,6	10 851	12,4	11 880	9,5	12 563	5,7
Z94.1 Наличие трансплантативного сердца	416	520	25,0	639	22,9	803	25,7	952	18,6	1164	22,3	1355	16,4	1524	12,5
Z94.2 Наличие трансплантативного 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 трансплантативной печени	1150	1406	22,3	1649	17,3	1948	18,1	2152	10,5	2632	22,3	3032	15,2	3489	15,1
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

онных и донорских программ. Эпидемия COVID-19 накладывает определенные ограничения, усложняет работу трансплантологов, но не делает ее невозможной.

В 2020 году в стране снизилось число доноров органов и число трансплантаций органов. Однако большинство центров не прекращали своей работы, и трансплантации органов по мере возможности выполнялись, также велась работа с листами ожидания и с пациентами после трансплантации.

Москва продемонстрировала устойчивость региональной системы координации органного донорства к фактору COVID-19, что во многом смягчило падение итоговых показателей донорской и трансплантационной активности по стране в целом.

Из положительных тенденций развития трансплантационной помощи в РФ, которые сохранились в 2020 году, следует отметить следующее:

- увеличение числа трансплантаций органов детям (+13,6%);
- увеличение доли эффективных доноров с диагнозом «смерть мозга» (97,0%);
- увеличение числа трансплантаций части печени от живого родственного донора (+15,0%);
- расширение географии донорских и трансплантационных программ (Тюльская областная клиническая больница – трансплантация почки от посмертного донора; Областная клиническая больница № 1 в Тюмени – трансплантация печени от посмертного донора);
- открытие филиала ФГБУ «НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России в г. Волжский (Волгоградская область).

Что касается прогноза, очевидно, что реализация донорских и трансплантационных программ в 2021 году зависит от уровня заболеваемости коронавирусной инфекцией COVID-19 и от результатов вакцинации населения. Потребность, а именно число пациентов в листах ожидания центров трансплантации, продолжает год от года увеличиваться. Поэтому базовой задачей 2021 года и последующих лет будет являться восстановление и дальнейшее увеличение числа трансплантаций органов в соответствии с потребностью населения и потенциалом донорства. Следует отметить, что продолжает действовать ведомственная целевая программа «Донорство и трансплантация органов в РФ», утвержденная приказом Минздрава России от 4 июня 2019 г. № 365. Программа предусматривает к 2024 году увеличение числа трансплантаций органов до 25,2 на 1 млн населения; числа регионов, в которых выполняются трансплантации, – до 42; числа центров трансплантации – до 80. Фактор COVID-19 не должен рассматриваться организаторами и специалистами здравоохранения в качестве основания для игнорирования указанного документа.

В таких условиях особая ответственность лежит на главных внештатных специалистах-трансплантологах органов здравоохранения субъек-

тов РФ. Это их задача привлечь внимание руководителей здравоохранения к трансплантационной программе, обосновать ее необходимость и целесообразность, защитить права пациентов, нуждающихся в трансплантации органов, на доступную и качественную медицинскую помощь.

В 2021 году НМИЦ ТИО им. акад. В.И. Шумакова продолжит оказывать всестороннюю методическую помощь органам здравоохранения и центрам трансплантации, обучать специалистов из субъектов РФ, осуществлять выездные аудиты, проводить телемедицинские консультации в режиме 24/7, вести мониторинг донорских и трансплантационных программ.

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. 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.

III. НАПРАВЛЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

КРАТКИЙ АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТ, ВЫПОЛНЕННЫХ В НМИЦ ТИО ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА В РАМКАХ ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАДАНИЯ НА ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТОК ЗА 2020 ГОД

Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Стаханова Е.А.

В 2020 году по государственному заданию выполнялось 8 научно-исследовательских работ.

Приоритетные направления исследований и разработок:

- разработка биологических и клинических аспектов трансплантации жизненно важных органов;
- исследования и разработки в области создания искусственных органов – систем вспомогательного кровообращения;
- исследования и разработки в области регенеративной медицины, нано- и клеточных технологий, создания биоискусственных органов.

Научные платформы: инвазивные технологии, регенеративная медицина (утвержденные приказом Минздрава России от 30.04.2013 г. № 281).

По результатам работ опубликованы 63 научные статьи: в журналах с импакт-фактором $>0,3$, – 55, из них 11 – в зарубежных научных журналах с высоким импакт-фактором (до 9,92). Достигнутые результаты существенно превышают плановые показатели (в соответствии с госзаданием должно быть опубликовано 15 статей).

Подано на рассмотрение в ФИПС 13 заявок на объекты интеллектуальной собственности (патенты на изобретения); получено и 8 патентов РФ на изобретение, 2 свидетельства программы для ЭВМ и два положительных решения на патенты на изобретения. Созданы и охраняются в форме ноу-хау 2 результата интеллектуальной деятельности.

Созданы следующие продукты и технологии:

- Сформирован единый эндоскопический протокол ведения реципиентов легких.
- Разработаны малоинвазивные методики лечения осложнений после трансплантации печени.

- Разработаны протоколы усовершенствования иммуносупрессивной и дополнительной медикаментозной терапии у реципиентов сердца.
- Разработан опытный образец канального центробежного насоса для клинических испытаний.

Наработаны:

- партия экспериментальных образцов тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной печени свиньи и доказана их биологическая безопасности *in vivo*;
- партия экспериментальных образцов тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного суставного хряща свиньи и доказана их биологическая безопасности *in vivo*.

Создана экспериментальная модель молекулярно-инженерной конструкции, стимулирующей митотическую активность гепатоцитов, состоящей из аллогенной оРНК и резорбируемого биополимерного коллаген-содержащего гидрогеля – биомиметика внеклеточного матрикса.

Разработана лабораторная технологическая инструкция по изготовлению гемосовместимых армированных композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов методом электроспиннинга.

Изготовлена лабораторная партия образцов модифицированных биоактивным покрытием композитных пористых трубчатых биополимерных каркасов диаметром 3,0 мм на основе желатина и поли(оксибутирата-ко-валерата) с армирующим внутренним слоем из поликапролактона.

Разработаны методики пробоподготовки и трехмерного анализа микро- и наноструктуры при помощи сканирующей оптической зондовой нанотомографии биodeградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка, на поверхность которых адгезированы мышинные фибробласты.

I. Разработка биологических и клинических аспектов трансплантации жизненно важных органов

Выполнение НИР было направлено на решение ключевых вопросов трансплантологии: увеличение продолжительности и улучшения качества жизни реципиентов солидных органов; разработку и усовершенствование методов прогнозирования, диагностики, лечения осложнений у пациентов до и после трансплантации солидных органов.

Основная научная проблема – разработка инновационных научно-технологических и организационных решений по повышению эффективности трансплантации жизненно важных органов; **основная цель** – создание условий для внедрения инновационных разработок в клиническую практику.

Ниже представлены наиболее значимые результаты.

По теме: «Разработка путей повышения эффективности трансплантации легких как радикального метода лечения терминальных стадий хронических респираторных заболеваний у взрослых и детей»

Разработаны пути повышения эффективности трансплантации легких как радикального метода лечения терминальных стадий хронических респираторных заболеваний у взрослых и детей.

Усовершенствована система оценки донора с точки зрения возможности его использования для реципиентов с малым объемом грудной клетки; выявлены факторы, определяющие необходимость редукции трансплантата. Составлен универсальный алгоритм для прогнозирования объема редукции трансплантата на этапе оценки донора. Произведена коррекция методики трансплантации с включением этапов редукции трансплантата в организме реципиента или на препаровочном столе.

Сформирован единый эндоскопический протокол ведения реципиентов легких. Разработана эндоскопическая классификация посттрансплантационных анастомозитов и бронхитов. Впервые определена роль криобиопсии трансплантата легких. Разработана комбинированная методика стентирования бронхов легочного трансплантата.

По теме исследования опубликовано 7 научных работ, из них 2 статьи в российских рецензируемых, 2 – в иностранных журналах; глава в книге; 2 кандидатские диссертации.

По теме: «Разработка и усовершенствование методов диагностики и лечения осложнений после трансплантации солидных органов (почки, печени), направленных на пролонгирование функции трансплантата и полную реабилитацию, включая репродуктивную функцию и способность к рождению здоровых детей»

Разработана и стандартизирована лапароскопическая хирургическая техника получения трансплантатов левого латерального сектора печени, позволяющая максимально снизить интра- и послеоперационные осложнения у доноров, а также получать трансплантаты высокого качества. Определены критерии для селекции прижизненных доноров для лапароскопической резекции левого латерального сектора печени.

Разработаны и стандартизованы тактики интервенционной коррекции нарушений портального и артериального кровотоков. Разработан алгоритм лечения билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей с использованием программных замен наружно-внутренних билиарных дренажей.

Проведена оценка эффективности трансплантации почки детям, установлено, что одно-, трех- и пятилетняя выживаемость после транспланта-

ции почки у детей не отличается от таковой у взрослых, что соответствует международному уровню.

Установлено полноценное восстановление репродуктивной функции и способности к рождению здоровых детей: начало менструального цикла у пациенток, оперированных в раннем возрасте, в стандартные сроки; восстановление менструального цикла у половозрелых пациенток; стандартное течение беременности и рождение здоровых доношенных детей, дальнейшее развитие рожденных реципиентками детей – без особенностей (срок наблюдения – до 26 лет).

По теме исследования опубликовано 33 научные работы, из них 15 статей в российских рецензируемых научных, 3 – в зарубежных журналах; 3 главы в книге; 2 учебно-методических пособия; 2 кандидатские диссертации.

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»

Разработаны протоколы усовершенствованной иммуносупрессивной терапии, включающие конверсию микофенолата мофетила на ингибитор пролиферативного сигнала эверолимус; дополнительной медикаментозной терапии у реципиентов сердца и доказана их эффективность для улучшения отдаленных результатов трансплантации. Наилучший прогноз выживаемости без нежелательных событий в течение $1863,9 \pm 54,3$ дней после трансплантации имеет место у реципиентов сердца, получающих в составе комплексной медикаментозной терапии ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы в комбинации с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента.

Изучены предикторы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца, и установлено, что выполнение реваскуляризации коронарных артерий в раннем периоде после трансплантации и назначение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы снижают риск развития нежелательных событий в течение последующих трех лет после трансплантации сердца.

Разработан алгоритм патоморфологической диагностики осложнений в ранние и поздние сроки после трансплантации сердца.

Организовано, проведено и получены результаты первого Многоцентрового национального исследования «Распространенность и Особенность Клинического течения КОРонавирусной инфекции у РЕЦИПИЕНТов сердца, почки, печени (РОККОР-реципиент), в которое включены 251 реципиент печени, почки и сердца с заболеванием COVID-19 из 20 регио-

нов России. Выявлены клинические и лабораторные предикторы тяжелого течения COVID-19 и развития нежелательных событий у реципиентов солидных органов. Сформулированы обоснованные рекомендации по трансплантации солидных органов в условиях пандемии COVID-19.

По теме исследования опубликовано 25 научных работ, из них 15 статей в российских рейтинговых рецензируемых, 1 – в зарубежных журналах; 1 глава в книге; 3 учебных пособия; защищены 3 кандидатские и 2 докторские диссертации.

II. Исследования и разработки в области создания искусственных органов – систем вспомогательного кровообращения

Основная научная проблема – разработка принципов проектирования центробежных канальных насосов для механической поддержки кровообращения.

По теме: «Разработка канальных центробежных насосов для кратковременной и длительной механической поддержки кровообращения»

На основе программного 3-D моделирования оптимизированы экспериментальные образцы канального центробежного насоса с минимальными значениями касательных напряжений, индекса гемолиза, зон стагнации и рециркуляции потока.

Разработана методика исследования на гидродинамических стендах оценки эффективности работы насоса в условиях моделирования сердечной недостаточности.

Разработана методика исследования экспериментальных образцов канального центробежного насоса на основании оценки гемолиза крови. Результаты соответствуют расчетным и допустимым значениям.

На основе результатов программных, стендовых и экспериментальных исследований установлено, что разработанный канальный центробежный насос может быть использован в системах экстракорпоральной мембранной оксигенации и обходов левого желудочка для кратковременной и длительной механической поддержки кровообращения.

По теме исследования опубликовано 7 научных работ, из них 3 статьи в российских рецензируемых и 1 – в зарубежных журналах, получено 4 патента РФ на изобретение, 2 свидетельства на программы ЭВМ, положительное решение о выдаче патента на полезную модель.

III. Исследования и разработки в области регенеративной медицины, нано- и клеточных технологий, создания биоискусственных органов

Наиболее значимые результаты, полученные в ходе выполнения четырех тем государственного задания.

По теме: «Создание и экспериментальное исследование биомедицинских клеточно- и тканеинженерных продуктов печени и хряща на основе композитных тканеспецифических резорбируемых матриц»

В технологию децеллюляризации печени свиньи был введен дополнительный этап обработки ткани ДНКазой, что позволило уменьшить иммуногенность полученных образцов. Разработан способ децеллюляризации суставного хряща свиньи, основанный на комбинации обработки ультразвуком и поверхностно-активными веществами, и позволивший сохранить в ткани гликозаминогликаны, способствующие хондрогенной дифференцировке. Установлено, что созданные экспериментальные модели КИК эффективны для стимулирования процессов регенерации поврежденных тканей печени и хряща *in vivo* и для выращивания соответствующих тканеинженерных конструкций *in vitro*.

По результатам проведенных исследований опубликовано 19 научных работ, из них 7 статей в рейтинговых рецензируемых российских, одна – в зарубежном журналах; получен один патент РФ на изобретение; защищено 2 кандидатские диссертации.

По теме: «Создание и исследование экспериментальных моделей молекулярно-инженерной конструкции для регенерации поврежденных органов и тканей»

Показано, что введение оРНК ККМ животным с ОПН одновременно активирует в клетках печени и процессы апоптоза и митотическую активность гепатоцитов, способствуя переключению активировавшегося апоптоза на пролиферацию. Предварительное хранение ККМ в растворе «Кустодиол» при $t = 4-6^{\circ}\text{C}$ в течение 18 часов вызывает экспрессию аутофагии и апоптоза этих клеток, что повышает индукционную активность оРНК, выделенной из них. Ускоренное восстановление структурных и функциональных нарушений в печени при ОПН достигается при однократном внутрибрюшинном введении активированной оРНК в дозе 90 мкг/100 г веса животного. Повышение эффективности устранения структурных и функциональных нарушений в печени при моделировании ХПН достигается путем двукратного внутрибрюшинного введения активированной оРНК в дозе 90 мкг/100 г веса животного. Аллогенная оРНК стимулирует

ет митотическую активность гепатоцитов при ОПН, тогда как ксеногенная оРНК стимулирует только инфильтрацию печени мезенхимальными (провоспалительными) клетками и активирует синусоидальные клетки. В опытах *in vitro* показано, что резорбируемый биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель может служить депо оРНК в организме.

По результатам проведенных исследований опубликовано 3 статьи в российских рецензируемых научных журналах, одна глава в книге.

По теме: «Разработка и исследование биополимерных трубчатых каркасов для создания тканеинженерных конструкций кровеносных сосудов малого диаметра»

Оптимизирована технология получения композитных пористых трубчатых биополимерных (КПТБ) матриц (каркасов), диаметром 2,0; 3,0 и 4,0 мм, состоящих из трех слоев: двух функциональных на основе смеси поли(оксибутират-со-оксивалерат) (П(ОБ-ОВ)) и желатина и одного армирующего из поликапролактона, модифицированных биологически-активным покрытием на основе гепарина и лизата тромбоцитов и исследовании их физико-механических и биологических свойств *in vitro*. *In vitro* наблюдалось отсутствие цитотоксичности и гемолитической активности лабораторных образцов трехслойных армированных КПТБ каркасов, модифицированных биоактивным покрытием на основе гепарина и лизата тромбоцитов. *In vitro* доказаны высокие матричные свойства внешней и внутренней поверхности модифицированных образцов композитного пористого плоского биополимерного матрикса относительно адгезии и пролиферации эндотелиальных клеток пупочной вены человека линии EA.hy926 и мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека, соответственно, по сравнению с исходной или гепаринизированной поверхностью. Исследование позволит в дальнейших работах перейти к выращиванию *in situ* полностью биологических кровеносных сосудов малого диаметра.

По результатам проведенных исследований опубликовано 5 научных работы, из них 2 статьи в российских рецензируемых, 1 – в зарубежном журналах.

По теме: «Разработка технологии флуоресцентной сканирующей оптически-зондовой нанотомографии для высокоразрешающего корреляционного анализа структуры биоматериалов»

При помощи технологии сканирующей оптически-зондовой нанотомографии разработаны методики пробоподготовки и трехмерного коррелятивного анализа конструкций на основе скаффолдов, содержащих

мышинные фибробласты 3T3 и конструкций на основе скаффолдов, содержащих клетки гепатокарциномы человека HepG2.

Выполнен трехмерный коррелятивный анализ распределения флуоресцентных маркеров FITC и DAPI, микро- и наноструктуры биodeградируемых скаффолдов на основе фиброина шелка с адгезированными мышинными фибробластами 3T3, клетками гепатокарциномы человека HepG2.

Разработанная технология исследования трехмерных характеристик наномасштабной морфологии фибробластов 3T3 и клеток гепатокарциномы человека Hep-G2, адгезированных на биodeградируемые скаффолды на основе фиброина шелка, с использованием принципов сканирующей оптической-зондовой нанотомографии, применима для исследования особенностей трехмерной микро- и наноструктуры клеток и клеточно-инженерных конструкций различных типов.

По результатам проведенных исследований опубликовано 7 научных работ, из них 1 – в зарубежном научном журналах, 2 главы в книге; получено 3 патента РФ на изобретение; защищена 1 кандидатская диссертация.

**IV. ТРАДИЦИИ ВЕДУЩЕЙ
НАУЧНОЙ ШКОЛЫ НМИЦ ТИО
ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА:
ГРАНТЫ ПРЕЗИДЕНТА РФ
ДЛЯ ГОСУДАРСТВЕННОЙ
ПОДДЕРЖКИ ВЕДУЩИХ НАУЧНЫХ
ШКОЛ**

НМИЦ ТИО ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА: ТРАДИЦИИ ВЕДУЩЕЙ НАУЧНОЙ ШКОЛЫ (Гранты Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ)

Готье С.В., Шевченко О.П.

В рамках государственной поддержки один раз в 2 года проводится конкурс научных школ, по результатам которого победителям выделяется Грант Президента Российской Федерации по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации. Конкурс проводится во исполнение Указа Президента РФ от 9 февраля 2009 г. № 146 «О мерах по усилению государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов и докторов наук» и Постановления Правительства Российской Федерации от 2 февраля 2019 г. № 135-р. «О мерах по государственной поддержке молодых российских ученых – кандидатов наук и докторов наук и ведущих научных школ Российской Федерации».

Дважды – в 2014 году и в 2020 году, победителями конкурса становились научные школы Национального медицинского исследовательского центра трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова.

1. Ведущая научная школа НШ-6294.2014.7 (2014–2015 гг.)

Тема научного исследования: Биохимические, иммунологические, патофизиологические и клинические аспекты трансплантации печени детям.

Руководитель: академик РАН, доктор медицинских наук, профессор С.В. Готье.



Предметом научного исследования явилось выявление у пациентов, ожидающих трансплантацию органов, биомаркеров, потенциально значимых в развитии осложнений после трансплантации; изучение молекулярных механизмов иммунной толерантности, гуморального и клеточного хронического отторжения трансплантата, совершенствования и минимизации иммуносупрессии; изучение патоморфологических и иммунопатологических изменений тканей трансплантатов при развитии осложнений у реципиентов солидных органов в ближайший и отдаленный периоды после операции; изучение объективных биологических механизмов безопасности АВ0-несовместимых трансплантаций; разработка новых подходов к улучшению биосовместимости и функциональных свойств высокопористых биополимерных матриц для тканевой инженерии; разработка способов иммобилизации ассоциатов клеток печени и мезенхимальных стволовых клеток на биodeградируемых биоактивных матрицах и проведение экспериментальных исследований такой конструкции с целью коррекции печеночной недостаточности.

2. Ведущая научная школа НШ-2598.2020.7 (2020–2021 гг.)

Тема научного исследования: Молекулярно-генетические аспекты структурного и функционального ремоделирования трансплантата (сердце, легкое) и разработка персонифицированных подходов к оценке эффективности лечения сердечной, легочной недостаточности у реципиентов.

Руководитель: член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор А.О. Шевченко



Предметом научного исследования является оценка роли молекулярно-генетических маркеров фиброза и влияния коморбидных факторов на структурное и функциональное ремоделирование трансплантированных сердца, легкого и разработка на их основе индивидуальные подходы к оценке эффективности лечения пациента.

Выделены следующие этапы работы:

- во-первых, охарактеризовать роль молекулярных (галектин-3, TGFβ1), сигнальных (микроРНК) и генетических (полиморфизмы гена TGFB1) маркеров у реципиентов в формировании фиброза, трансплантированных сердца, легкого выявленного в биоптатах трансплантированных органов; верифицированного по результатам исследования биоматериалов;
- во-вторых, оценить влияние коморбидных состояний (острое отторжение, фиброз, артериальная гипертензия, метаболический син-

дром и др.) на структурное и функциональное ремоделирование трансплантированных сердца, легкого;

- в-третьих, разработка персонифицированных подходов к оценке эффективности лечения у каждого реципиента с учетом молекулярно-генетических факторов и коморбидных состояний.

Научной школой считается сложившийся коллектив исследователей численностью не менее 10 человек, связанных с проведением научных исследований по общему научному направлению и объединенных совместной научной деятельностью. Такой коллектив должен осуществлять подготовку научных кадров по образовательным программам по направлению научных исследований.

На получение Гранта может претендовать коллектив, включающий Руководителя и исследователей, в том числе молодых, имеющих научные достижения в соответствующем научном направлении, в том числе публикации статей в научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science Core Collection и Scopus, участие в научных исследованиях, конференциях и семинарах, результаты интеллектуальной деятельности, результаты научной деятельности, результаты педагогической деятельности и общественное признание.



Вручение Министром здравоохранения РФ М.А. Мурашко свидетельства на право получения грантов Президента РФ руководителю научной школы члену-корреспонденту РАН, доктору медицинских наук, профессору А.О. Шевченко

Получение по результатам конкурсного отбора грантов Президента РФ стало почетной и престижной традицией НМИЦ ТИО им. И.В. Шумакова и свидетельствует о высоком и профессиональном уровне его руководства и всего коллектива.

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

Роспатент составил топ-100 лучших изобретений 2020 г., получивших правовую охрану. Этот «рейтинг» составляется ежегодно, начиная с 2007 года. Туда входят самые знаковые достижения отечественной науки по итогам анализа интеллектуальной собственности.

Патентообладатели лучших изобретений награждаются памятными дипломами.

ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России награжден дипломом в номинации «100 лучших изобретений России за второе полугодие 2020 года» за разработку «Устройство управления потоком крови в аппаратах сердечно-легочного обхода».



Диплом Федеральной службы по интеллектуальной собственности (Роспатента) в номинации «100 лучших изобретений России за второе полугодие 2020 года»

Изобретение относится к медицинской технике, а именно к аппаратам искусственного кровообращения (АИК) и экстракорпоральной мембран-

ной оксигенации (ЭКМО) как для искусственного кровообращения при проведении кардиохирургических операций, так и для вспомогательного кровообращения с целью восстановления миокарда в случае застойной сердечной недостаточности.

Техническое решение основано на создании физиологического пульсирующего потока в АИК и аппаратах ЭКМО при заданной скорости вращения рабочего колеса насоса, что уменьшает площадь контакта крови с инородной поверхностью, потенциально опасной для травмы крови.

Область применения (класс МПК): А61М 1/10 (2006.01): насосы для перекачивания крови; искусственное сердце; устройства для механического воздействия на систему кровообращения, например внутриаортальные баллоны (стимулирование работы сердца).

Патенты и свидетельства ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, полученные в 2020 году

Номер патента, свидетельства	Название
2716577	Способ получения тканеспецифического матрикса для тканевой инженерии хряща
2020617003	Программа для ЭВМ: Модель сердечно-сосудистой системы
2020617004	Программа для ЭВМ: Динамическая модель сердечно-сосудистой системы с оценкой уровня потребления и доставки кислорода
2724871	Способ искусственного кровообращения при реконструктивной операции на дуге аорты
2725083	Устройство и способ управления потоком крови роторных насосов
2725084	Искусственное сердце
2732312	Устройство управления потоком крови в аппаратах сердечно-легочного обхода
2732598	Микроноситель для клеток на основе натурального шелка и способ его получения
2734136	Система и способ селективной билатеральной перфузии головного мозга при реконструктивной операции на дуге аорты, проводимой в условиях искусственного кровообращения
2734142	Устройство и способ бивентрикулярного обхода сердца

Положительные решения о выдаче патента на изобретение, полезную модель на заявки, поданные в 2020 году

Номер заявки	Название
2020119915	Способ коррекции хронической печёночной недостаточности
2020124901	Подложка для исследования биологического образца методом сканирующей зондовой нанотомографии и способ ее получения
2020131752	Устройство управления потоком крови в экстракорпоральных системах вспомогательного кровообращения

Международная патентная заявка, поданная в 2020 году

Номер и дата международной заявки	Название
PCT/RU2020/000597 11.11.2020	Устройства и способы управления потоком крови роторных насосов в системах механической поддержки кровообращения

**VI. НОВОЕ В ПОРЯДКЕ
ПРИСУЖДЕНИЯ УЧЕНЫХ
СТЕПЕНЕЙ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»**

ПРАВО САМОСТОЯТЕЛЬНОГО ПРИСУЖДЕНИЯ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ КАНДИДАТА И ДОКТОРА НАУК ПОЛУЧИЛ НМИЦ ТИО ИМ. АК. В.И. ШУМАКОВА

По распоряжению Правительства РФ № 2206-р от 31 августа 2020 года НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова вошел в список научных организаций, которые вправе самостоятельно присуждать ученые степени кандидата и доктора наук. Более того, НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова – единственная из подведомственных Минздраву России организация, которой доверена столь почетная и ответственная функция.

Решение об открытии специальности «трансплантология и искусственные органы» и создании на базе тогда еще Научно-исследовательского института трансплантологии и искусственных органов Министерства здравоохранения СССР диссертационного совета, принимающего к защите диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по этой специальности, было принято в 1986 году, и в 2021 году будет отмечено 35-летие этого знаменательного события.

Через диссертационный совет при НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова проходит подавляющее большинство всех диссертационных работ по специальности «трансплантология и искусственные органы». Более того, совет объединяет в своем составе большинство отечественных ведущих специалистов в этой области.

За 35 лет своей истории относительно новая научная специальность «трансплантология и искусственные органы» заняла достойное место на современном научном медицинском поле. Диссертационный совет при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России все эти годы успешно выполнял свои функции, продолжал уверенно работать в условиях реформирования системы подготовки и государственной аттестации научных кадров. Хочется выразить уверенность, что право самостоятельного присуждения ученых степеней позволит повысить не только престиж НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова и специальности и, но и качество экспертизы диссертационных работ.

По распоряжению Правительства РФ № 2206-р от 31 августа 2020 года НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова вошел в список научных организаций, которые вправе самостоятельно присуждать ученые степени кандидата и доктора наук



ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РАСПОРЯЖЕНИЕ

от 31 августа 2020 г. № 2206-р

МОСКВА

Дополнить раздел I перечня научных организаций и образовательных организаций высшего образования, которым предоставляются права, предусмотренные абзацами вторым - четвертым пункта 3¹ статьи 4 Федерального закона "О науке и государственной научно-технической политике", утвержденного распоряжением Правительства Российской Федерации от 23 августа 2017 г. № 1792-р (Собрание законодательства Российской Федерации, 2017, № 35, ст. 5392; 2018, № 36, ст. 5677; 2019, № 36, ст. 5058), пунктом 4¹ следующего содержания:

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

Председатель Правительства
Российской Федерации



М.Мишустин

ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ В НОВОЙ НОМЕНКЛАТУРЕ НАУЧНЫХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ: СОЧЕТАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И ОБНОВЛЕНИЯ

В 2021 году в нашей стране утверждена новая номенклатура научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени (приказ Минобрнауки России от 24 февраля 2021 года № 118). Изменения предприняты с целью развития перспективных научных направлений и междисциплинарных исследований, а также актуализации наименований научных специальностей.

Номенклатура научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, – это важный инструмент реализации государственной политики в сфере подготовки и аттестации научных и научно-педагогических кадров, создающий предпосылки для концентрации усилий научного сообщества на развитии перспективных научных направлений. Новая номенклатура направлена также на интеграцию современной российской науки в международное научное пространство.

В новой номенклатуре научная специальность «Трансплантология и искусственные органы» (3.1.14, медицинские и биологические науки) сохранила свое самостоятельное место, интегрировала в себя смежные направления науки и входит в группу научных специальностей «Клиническая медицина».

Трансплантология, опираясь на новейшие достижения науки и биомедицинских технологий, продолжает свое развитие в тесной связи с инновационными, клеточными и биоинженерными технологиями, регенеративной медициной, созданием и применением биоискусственных органов и систем.

В проекте обновленной редакции паспорта специальности «трансплантология и искусственные органы» сохранены основные характеристики, заложенные еще 35 лет назад при открытии специальности, но существенно расширен раздел «области исследования», отражающий современный уровень развития последних.

Проект обновленной редакции паспорта специальности «трансплантология и искусственные органы»

Шифр специальности

3.1.14 Трансплантология и искусственные органы

Формула специальности

Трансплантология и искусственные органы – специальность, базирующаяся на изучении молекулярно-биологических, генетических, патофизиологических и клинических проблем пересадки органов и тканей в клинике и эксперименте; изыскании способов преодоления реакций тканевой несовместимости, управления реакцией организма на чужеродные антигенные структуры, а также включающая вопросы разработки и использования технических устройств и биологических систем для частичной или полной замены жизненно важных органов и их частей, утративших свою функцию.

Области исследований

1. Экспериментальная и клиническая разработка, а также внедрение в практику методов пересадки органов, тканей. Трансплантационная хирургия. Оценка функции пересаженных органов и тканей.
2. Исследования по разработке способов преодоления тканевой несовместимости путем углубленного изучения вопросов трансплантационной иммунологии, генетических основ формирования тканевого иммунитета, трансплантационной патофизиологии, морфологии трансплантированных органов и тканей и внедрение полученных данных в клиническую практику.
3. Теоретическая и экспериментальная разработка и применение в клинической практике методов консервации и реабилитации донорских органов, тканей.
4. Теоретическая и экспериментальная разработка и создание аппаратов и систем, заменяющих жизненно важные органы и отдельные их функции; клиническое применение. Исследования в области создания материалов для искусственных органов.
5. Теоретическая и экспериментальная разработка биомедицинских клеточных продуктов и технологий тканевой инженерии и регенеративной медицины на их основе для частичной или полной замены функций поврежденных жизненно важных органов. Клиническое применение технологий тканевой инженерии и регенеративной медицины.

6. Исследование и разработка вопросов стратегии и тактики организации медицинской помощи населению в области донорства и трансплантации органов.
7. Изучение психологических изменений и влияния психологических факторов на результаты лечения пациентов при трансплантации донорских органов и применении искусственных органов и систем.
8. Разработка систем и создание алгоритмов интеллектуальной поддержки при анализе баз данных, регистров донорства и трансплантации органов. Использование цифровизации, искусственного интеллекта для оптимизации принятия решения и персонализации лечения реципиентов.
9. Разработка методов диспансеризации и реабилитации больных с пересаженными органами, а также с имплантированными системами жизнеобеспечения.

Отрасль наук

- биологические науки
- медицинские науки

Смежные специальности

- 3.1.1. Ренгенэндоваскулярная хирургия
- 3.1.6. Онкология, лучевая терапия
- 3.1.9. Хирургия
- 3.1.11. Детская хирургия
- 3.1.12. Анестезиология и реаниматология
- 3.1.13. Урология и андрология
- 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия
- 3.1.18. Внутренние болезни
- 3.1.20. Кардиология
- 3.1.21. Педиатрия
- 3.1.25. Лучевая диагностика
- 3.1.29. Пульмонология
- 3.1.30. Гастроэнтерология и диетология
- 3.1.32. Нефрология
- 3.1.33. Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия
- 3.2.2. Эпидемиология
- 3.2.3. Общественное здоровье и организация здравоохранения, социология и история медицины
- 3.2.5. Медицинская психология
- 3.2.7. Аллергология и иммунология
- 3.3.3. Патологическая физиология

1.1.10. Биомеханика и биоинженерия

1.5.3. Молекулярная биология

1.5.22. Клеточная биология

1.5.8. Математическая биология, биоинформатика

Отрасль наук

- Медицинские науки
- Биологические науки

Можно констатировать, что современная трансплантология – яркий пример стабильного развития и возможностей современной медицины, прочно завоевала свои позиции и как многопрофильная научная дисциплина, и как область клинической медицины, связанная с инновационными технологиями, использующая новейшие достижения естественных и точных наук. По сути, трансплантология является интегральной областью научных исследований, аккумулирующих и активно использующих достижения иммунологии, молекулярной биологии и биохимии, биотехнологии, точных наук (биомеханика, биоинженерия и др.), тесно связанной с обоснованной инновационной политикой.

**VII. ПЕРЕЧЕНЬ ДЕЙСТВУЮЩИХ
ДИССЕРТАЦИОННЫХ
СОВЕТОВ по защите
докторских и кандидатских
диссертаций по специальности
14.01.24. – «трансплантология
и искусственные органы»
с указанием диссертационных
работ, защищенных в 2020 г.**

ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ Д 208.055.01

при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, утвержден приказом Росособнадзора № 1925-1333 от 09.09.2009 г. Полномочия совета подтверждены приказом Министерства образования и науки РФ от 11 апреля 2012 г. № 105/нк:
– медицинские науки;
– биологические науки.

В диссертационном совете Д 208.055.01 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России по специальности **«Трансплантология и искусственные органы»** защищены 2 диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, 8 диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук и 3 диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Колоскова Надежда Николаевна

**«Медикаментозная терапия у реципиентов
трансплантированного сердца»**

14.01.24 – 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.

Научный консультант: член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор Шевченко А.О.

Можейко Наталья Павловна

«Патоморфология трансплантированного сердца»

14.01.24 – 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.

Научный консультант: д. м. н., профессор Ильинский И.М.

Беков Максат Турдумаматович

«Мультимодальная бронхоскопия в трансплантации легких»

14.01.24 – 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. б. н., профессор Готье С.В.

Воробьев Константин Александрович

«Аллогенные костные материалы для реконструктивной хирургии и тканевой инженерии (экспериментальное исследование)»

14.01.24 – 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. б. н., профессор Севастьянов В.И.

Восканов Михаил Альбертович

«Интервенционные методы коррекции сосудистых осложнений и билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей»

14.01.24 – 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.

Гончарова Анна Юрьевна

«Предикторы развития и прогрессирования васкулопатии коронарных артерий у реципиентов сердца»

14.01.24 – 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: член-корреспондент РАН, д. м. н., профессор Шевченко А.О.

Догонашева Анастасия Анатольевна

«Трансплантация сердца пациентам с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией»

14.01.24 – 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.

Олешкевич Денис Олегович

«Методы хирургической адаптации трансплантата легких к плевральной полости реципиента»

14.01.24 – 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.

Орлова Надежда Валерьевна

«Замещение дефекта мочевого пузыря с использованием тканеинженерных конструкций, содержащих аллогенные клетки (экспериментальное исследование)»

14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы.

14.01.23 – Урология.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России.

Научные руководители: д. м. н., профессор Яблонский П.К., к. м. н. Муравьев А.Н.

Сёмаш Константин Олесяевич

«Лапароскопическое изъятие левого латерального сектора печени у прижизненного донора»

14.01.24 – 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.

Баранова Наталья Владимировна

«Экспериментальные модели тканевых эквивалентов поджелудочной железы»

14.01.24 – 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., профессор Севастьянов В.И.

Сенокосова Евгения Андреевна

«Разработка и исследование биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра, модифицированных rgd-пептидами»

14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Работа выполнена в ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний».

Научный руководитель: д. б. н. Антонова Л.В.

Шарапченко Софья Олеговна

«МикроРНК при трансплантации легких: анализ экспрессии и диагностическая эффективность»

14.01.24 – 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. м. н., профессор Шевченко О.П.

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 2020 году не проводились защиты диссертаций на соискание ученой степени по специальности **«Трансплантология и искусственные органы»**.

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»** одна диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Анисимов Юрий Андреевич

**«Анатомическое обоснование трансплантации
панкреатодуоденального комплекса с изолированным
кровообращением по селезеночной артерии»**

14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Работа выполнена в государственном бюджетном учреждении здравоохранения г. Москвы «Научно-исследовательском институте скорой помощи им Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы».

Научный руководитель: д. м. н. Пинчук А.В.

**VIII. МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИЙ
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»,
ЗАЩИЩЕННЫХ В 2020 г.
в диссертационном совете
Д 208.055.01 при ФГБУ
«Национальный медицинский
исследовательский центр
трансплантологии и искусственных
органов имени академика
В.И. Шумакова» Минздрава России**

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

МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ ТЕРАПИЯ У РЕЦИПИЕНТОВ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

Колоскова Н.Н., 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

На сегодняшний день трансплантация сердца остается «золотым стандартом» лечения пациентов с конечной стадией хронической сердечной недостаточности [Шумаков В.И., 2006]. По данным международного регистра трансплантации сердца и легких (ISHLT) количество выполняемых трансплантаций сердца в мире в среднем составляет около шести тысяч операций в год [Khush K.K. et al., 2019]. Потребность в увеличении числа трансплантаций сердца в Российской Федерации напрямую связана с ежегодно увеличивающимся количеством пациентов с терминальной стадией хронической сердечной недостаточности, нуждающихся в трансплантационной помощи [Готье С.В. и соавт., 2018]. Результаты исследования ЭПОХА – ХСН, проведенного на Европейской части РФ, показало значительный рост количества больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) III – IV ФК; с 1,76 до 4,5 миллионов человек за последние 16 лет [Фомин И.В., 2016].

По данным Регистра Российского трансплантологического общества, в 2015 году количество трансплантаций сердца, выполняемых в 10 трансплантологических центрах России, увеличилось на 35,6%. В последние годы отмечается значительное улучшение выживаемости реципиентов в ранние сроки после ортотопической трансплантации сердца (ОТТС), что обусловлено, в первую очередь, совершенствованием организации программы донорства и трансплантации сердца, качества оперативного лечения, применением современных методов механической поддержки кровообращения, а также улучшением анестезиологического пособия и протоколов иммуносупрессии [Готье С.В. и соавт., 2015].

Однако, несмотря на достигнутые результаты послеоперационного ведения реципиентов с пересаженным сердцем, медиана выживаемости в течение года колеблется от 80 до 90% и 50–60% в течение последую-

щих десяти лет [Khush K.K. et al., 2019]. К причинам ограничения продолжительности жизни реципиентов относят хроническое отторжение трансплантата (болезнь коронарных артерий пересаженного сердца), побочные действия иммуносупрессивной терапии (развитие артериальной гипертензии, хронической почечной недостаточности, посттрансплантационного сахарного диабета, злокачественных новообразований), инфекционные осложнения, а также увеличение доли пациентов старших возрастных групп с наличием коморбидной патологии [Aliabadia A.Z. et al., 2012; Шевченко А.О. и соавт., 2018].

В этой связи актуальным является совершенствование иммуносупрессивной терапии, а также поиск путей улучшения отдаленной выживаемости реципиентов трансплантированного сердца за счет оптимизации медикаментозной терапии, эффективность которой доказана в общей популяции, но недостаточно изучена у реципиентов трансплантированного сердца.

Цель исследования

Улучшение отдаленных результатов трансплантации путем совершенствования иммуносупрессивной и дополнительной медикаментозной терапии у реципиентов сердца.

Задачи исследования

1. Оценить выживаемость реципиентов сердца, оперированных в 1986–2018 гг., и выявить факторы, влияющие на исходы трансплантаций сердца, в течение длительного периода наблюдения.
2. Провести сравнительный анализ клинической эффективности различных комбинаций иммуносупрессивных средств, включающих ингибиторы пролиферативного сигнала и препараты микофеноловой кислоты.
3. Изучить влияние конверсии на эверолимус в составе иммуносупрессивной терапии реципиентов сердца, на функцию почек в различные сроки после трансплантации.
4. Оценить эффективность ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента в составе комплексной медикаментозной терапии у реципиентов сердца в отдаленном периоде.
5. Оценить влияние антагониста минералкортикоидных рецепторов (спиронолактона) и комбинации медикаментозных препаратов, влияющих на активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, на отдаленный прогноз реципиентов сердца.
6. Выполнить анализ влияния приема ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы на фоне иммуносупрессивной терапии на выживаемость и раз-

витие нежелательных событий у реципиентов сердца, в том числе страдающих сахарным диабетом 2 типа.

7. Провести анализ влияния на выживаемость без нежелательных событий комбинации ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы с препаратами, подавляющими активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, в составе комплексной медикаментозной терапии реципиентов сердца.

Научная новизна

Впервые на основании анализа результатов длительного, более чем 30-летнего наблюдения репрезентативной когорты реципиентов сердца, выявлены показатели, определяющие исходы трансплантации;

- установлено, что значимым фактором, влияющим на результаты трансплантации сердца, является период времени (годы), в который выполнялась трансплантация; охарактеризована динамика в различные сроки и определены периоды, наиболее благоприятные в отношении отдаленного прогноза.

Впервые проведен сравнительный анализ двух режимов иммуносупрессии, включающих комбинации такролимуса с ингибитором пролиферативного сигнала, либо с производным микофеноловой кислоты, на основании которого сформулированы подходы к персонализации иммуносупрессии у реципиентов сердца;

- показано, что конверсия на эверолимус хорошо переносится и не сопровождается увеличением частоты нежелательных событий у реципиентов сердца.

Новыми являются данные об эффективности применения ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента, блокаторов минералкортикоидных рецепторов и ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы и их позитивном влиянии на отдаленный прогноз выживаемости у пациентов с трансплантированным сердцем;

- о безопасности и эффективности комбинаций препаратов дополнительной медикаментозной терапии на фоне иммуносупрессии у реципиентов сердца.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическое и практическое значение имеют полученные в настоящем исследовании данные о факторах, влияющих на исходы трансплантации сердца; потенциально способных участвовать в патогенезе посттрансплантационных осложнений и служить обоснованием для персонализированного назначения комбинаций иммуносупрессивных и дополнительных медикаментозных средств.

Полученные в ходе исследования данные об эффективности конверсии микофенолата мофетила на эверолимус позволяет выделить группы реципиентов, которым рекомендовано использование ингибитора пролиферативного сигнала в составе комбинации иммуносупрессивных средств с целью улучшения отдаленных клинических результатов, а именно – реципиентов с нарушением функции почек, васкулопатией трансплантата и высоким риском новообразований.

Показана высокая эффективность терапии ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (или блокаторами рецепторов к ангиотензину) и ее влияние на прогноз выживаемости у реципиентов трансплантированного сердца.

Выявлено положительное влияние антиминералкортикоидного средства (спиронолактона) на выживаемость без нежелательных событий у реципиентов трансплантированного сердца.

Выявлена комбинация медикаментозной терапии, включающая ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы в сочетании с ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента в дополнение к иммуносупрессивной терапии, достоверно увеличивающая прогноз выживаемости после трансплантации сердца.

Методология и методы исследования

В исследовании проведен ретроспективный анализ клинических данных репрезентативной когорты реципиентов сердца, статистический анализ лабораторных и инструментальных исследований в процессе лечения реципиентов сердца с использованием различных комбинаций медикаментозных средств.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Использование комбинации различных средств иммуносупрессии и дополнительной медицинской терапии является эффективным путем улучшения выживаемости и персонификации ведения реципиентов сердца в отдаленном периоде после трансплантации.
2. Использование комбинации ингибиторов пролиферативного сигнала с такролимусом является безопасным и эффективным при ведении реципиентов трансплантированного сердца с целью улучшения отдаленных клинических результатов у реципиентов с почечной недостаточностью, прогрессированием васкулопатии трансплантата, высоким риском злокачественных новообразований.
3. Назначение в сочетании с иммуносупрессивной терапией в качестве антигипертензивных средств препаратов, подавляющих активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, патогенети-

чески обосновано, клинически эффективно, улучшает отдаленный прогноз у реципиентов сердца.

4. Применение препаратов ГМГ-КоА-редуктазы в составе комплексной посттрансплантационной терапии реципиентов сердца связано с улучшением отдаленных клинических результатов трансплантации: увеличением выживаемости без нежелательных событий, уменьшением частоты и риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обеспечивается последовательным определением задач и объемом проведенных исследований (анализ историй болезни 1094 реципиентов трансплантированного сердца, проведена конверсия 29 реципиентов на эверолимус) с использованием современных инструментальных методов исследования и методов статистической обработки для оценки статистической значимости выявленных изменений и сравнительным анализом собственных данных с данными других исследователей.

Работа выполнена в рамках государственных заданий Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок по темам: «Разработка биотехнологических, биомедицинских, клинических подходов к повышению эффективности трансплантации сердца и легких» (2015–2017 гг.) и «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.).

Апробация работы состоялась 12 июня 2020 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 (ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России).

Основные результаты работы доложены и обсуждены на Третьем российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2017), IX Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2018), на 26-м ежегодном съезде Азиатского общества сердечно-сосудистой и торакальной хирургии (Москва, 2018), на 27-м Интернациональном конгрессе общества трансплантологов (Мадрид, Испания, 2018), на Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2018), на Конгрессе Европейского общества кардиологов совместно с Всемирным конгрессом кардиологов (Париж, Франция, 2019), Российском национальном

конгрессе кардиологов (Екатеринбург, 2019), Четвертом Российской национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019), 19 Международном конгрессе Европейского общества трансплантологов (ESOT) (Копенгаген, Дания, 2019), на Конгрессе с международным участием «Сердечная недостаточность 2019» (Москва, 2019), Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше» (Москва, 2020), Российском национальном конгрессе кардиологов 2020 (Казань, 2020).

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в кардиологическом отделении, кардиохирургическом отделении № 3 ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в лечебном процессе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Государственного бюджетного учреждения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1» (г. Екатеринбург) и Государственного бюджетного учреждения «Республиканский кардиологический центр» (г. Уфа, Республика Башкортостан), в учебном процессе на кафедре 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 Минздрава России (Сеченовский университет), на кафедре кардиологии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Материалы и методы исследования

Работа основана на анализе данных 1094 пациентов, которым в период с ноября 1986-го по 30 декабря 2018 года была выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Причинами развития тяжелой степени сердечной недостаточности, послужившей поводом для включения в лист ожидания трансплантации сердца, были: у 627 (57,3%) дилатационная кардиомиопатия, у 381 (34,8%) – ишемическая кардиомиопатия, у 16 (1,5%) пациентов – гипертрофическая кардиомиопатия, у 9 (0,8%) – рестриктивная кардиомиопатия, врожденные пороки сердца 8 (0,7%) пациентов, приобретенные пороки сердца 16 (1,5%) пациентов, у 2 (0,2%) пациентов диаг-

ностирован аритмогенная дисплазия правого желудочка и в 35 случаях (3,2%) – дисфункция сердечного трансплантата, потребовавшая выполнения ретрансплантации сердца, а в одном случае ре-ретрансплантации сердца. Все пациенты, включенные в лист ожидания трансплантации сердца, находились в III и IV функциональном классе по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA), 45,8% случаев и 54,2% пациентов соответственно. Показания для трансплантации сердца и включения в лист ожидания основывались на рекомендациях Международного общества трансплантации сердца и легких (International Society for Heart and Lung Transplantation), а также Национальных клинических рекомендациях «Российского трансплантологического общества». Первоочередность выполнения трансплантации сердца и распределение донорских органов определялась исходной тяжестью состояния реципиентов в зависимости от статуса UNOS. Трансплантацию сердца в статусе 2 ожидали 46,8%, в статусе 1B – 21,7% и в 1A статусе 31,5% реципиентов соответственно. Все реципиенты трансплантированного сердца в качестве базовой иммуносупрессивной терапии принимали ингибиторы кальциневрина. Доза препаратов титровалась в зависимости от концентрации препарата (такролимуса или циклоспорина) в крови, сроках после выполнения трансплантации сердца, наличия эпизодов отторжения трансплантата и болезни коронарных артерий пересаженного сердца. Начало приема такролимуса в зависимости от состояния реципиента проводилось на 2–6-е сутки после операции в дозе 0,15 мг/кг 2 раза в сутки внутрь при условии возможности самостоятельного перорального приема лекарственных препаратов. Контроль концентрации такролимуса в крови проводится не чаще одного раза в три дня, до достижения целевой концентрации в крови (табл. 1).

Таблица 1

Целевые значения концентрации такролимуса в течение первого года наблюдения

Иммуносупрессант	Сроки после трансплантации				
	1–2 месяц	3–6 месяц	7–12 месяц	13–24 месяц	24 месяца
Такролимус, нг/мл	10–12	7–10	5–8	4–6	4–6

Конверсия реципиента на ингибитор m-TOR включает в себя снижение дозы такролимуса, постепенная отмена микофеноловой кислоты на фоне достижения целевых концентраций эверолимуса в цельной крови, сохраняющаяся терапия метилпреднизолоном (рис. 1).

Стартовая доза эверолимуса составляет 0,5 мг × 2 раза в сутки с постепенным увеличением дозы под контролем концентрации препарата в

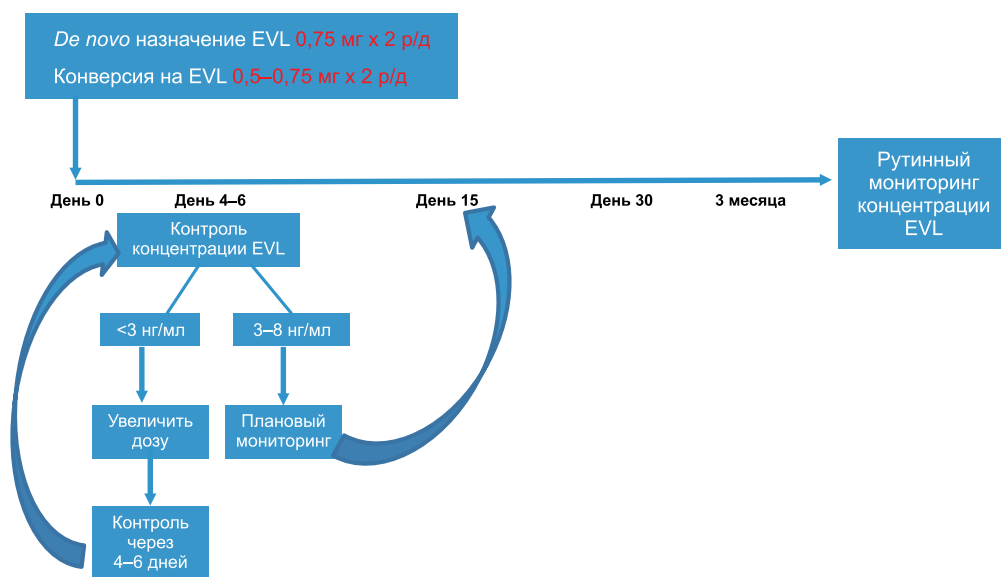


Рис. 1. Мониторинг концентрации эверолимуса при поздней конверсии

цельной крови, которая проводится не чаще одного раза в три дня до достижения равновесной концентрации с последующим рутинным мониторингом не реже одного раза в три месяца (табл. 2).

Таблица 2

Целевые значения концентраций иммуносупрессивных препаратов при использовании в схеме иммуносупрессивной терапии эверолимуса

Иммуносупрессант	Сроки после трансплантации				
	1–2 месяц	3–6 месяц	7–12 месяц	13–24 месяц	24 месяца
Такролимус, нг/мл	10–12	7–10	5–8	4–6	3–5
Эверолимус, нг/мл	–	3,5–6,5			

После достижения равновесных концентраций и хорошей переносимости ингибитора m-TOR из схемы иммуносупрессивной терапии исключаются препараты микофеноловой кислоты или микофенолата мофетил.

После выписки из стационара всем реципиентам пересаженного сердца рекомендовалось проходить регулярное амбулаторное обследование в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России для контроля за проводимой иммуносупрессивной терапией, своевременного

выявления и лечения кризов острого отторжения, а также развития нежелательных побочных эффектов на фоне проводимой терапии.

Все материалы, полученные в ходе исследования, были собраны в единую электронную базу. Полученные результаты анализировались при помощи программного обеспечения Microsoft Office Excel с использованием дополнительных программ для научно-технических расчетов IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США). Определялись показатели описательной статистики: число наблюдений (n), среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (SD) – для параметрических данных, для непараметрических – медиана и интерквартильный размах. Для суждения о достоверности различий между выборками с непараметрическим распределением применяли критерий Манна–Уитни. Для выявления качественных и количественных порядковых признаков определялся коэффициент корреляции рангов Спирмена. Анализ динамических различий проводили по критерию Вилкоксона. Вероятность ошибки указывали как p и считали приемлемой при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В период с октября 1986-го по декабрь 2018 года в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России было выполнено 1094 трансплантации сердца, из них 35 повторных ТС реципиентам, с развившейся необратимой дисфункцией трансплантата; одной пациентке выполнено две повторных ТС. Количество выполненных трансплантаций существенно различалось в разные годы наблюдения. За период с 1986-го по 1988 г. всего было выполнено 17 операций (1,5%); 2013–2015 годы – 300 (27,4%); 2016–2018 годы – 486 (44,4%) трансплантаций сердца.

Из 1094 прооперированных за весь период времени пациентов, лиц мужского пола было 943 (86,2%), женского пола – 151 (13,8%) пациент. Анализ показал, что средний возраст прооперированных пациентов составил $45 \pm 13,7$ (от 10 до 78) лет. Средний возраст лиц мужского и женского пола на момент трансплантации составлял $49 \pm 13,82$ и $45 \pm 13,83$ лет соответственно. При сравнении возрастных показателей лиц мужского и женского пола достоверных различий получено не было ($p > 0,05$).

При последующем анализе возрастных показателей реципиентов в зависимости от временного периода выполненной трансплантации сердца выявлена статистически значимая зависимость ($p < 0,001$ критерий ANOVA) (рис. 2).

Имела место прямая умеренная зависимость между возрастом реципиентов и периодом, в который была выполнена ТС ($r = 0,3$; $p < 0,001$).

В анализируемый тридцатилетний период выполнения трансплантации сердца отмечается отчетливая тенденция к увеличению возраста реципиентов на момент проведения операции. Так, если в период с

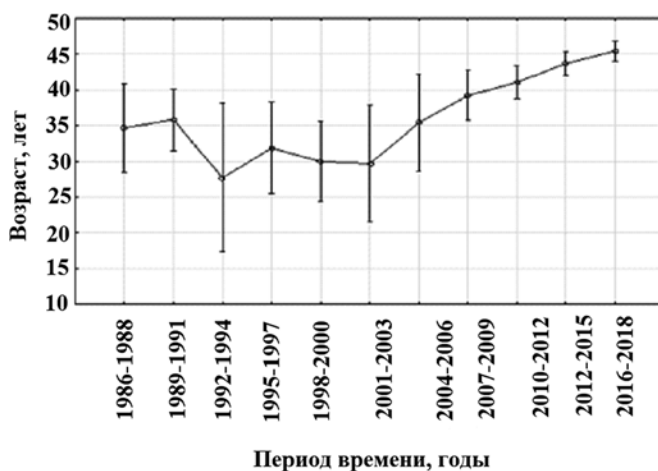


Рис. 2. Динамика возрастных показателей реципиентов в зависимости от периода времени, в который была выполнена ТС

1986–1988 годы этот показатель составлял $37,3 \pm 9,6$ лет, то в периоды с 2013–2015 и 2016–2018 годы он составил $46,1 \pm 13,4$ и $47,9 \pm 13,1$ лет соответственно.

При анализе дотрансплантационной патологии, приведшей к развитию терминальной стадии сердечной недостаточности и явившейся причиной постановки пациента в лист ожидания ТС, было выявлено, что наиболее часто встречающейся патологией была дилатационная кардиомиопатия (57,3%), на втором месте среди нозологий – ишемическая кардиомиопатия (34,8%) различия между двумя группами достоверны, $p < 0,05$.

Пациенты с дотрансплантационным диагнозом ишемической болезни сердца относились к более старшей возрастной группе, их средний возраст составил $47,7 \pm 16,8$ лет против $37,2 \pm 13,05$ лет ($p < 0,05$) среди реципиентов с диагнозом дилатационная кардиомиопатия.

Все пациенты, которым выполнялась трансплантация, страдали тяжелой сердечной недостаточностью 3 и 4 ФК по классификации NYHA: сердечная недостаточность 3 ФК имела место в 45,8% случаев, 4 ФК – в 54,2%.

Ниже представлено распределение пациентов, ожидающих трансплантацию сердца, в соответствии со статусом UNOS, который присваивался в зависимости от тяжести исходного состояния и в связи с первоочередностью распределения донорских органов (рис. 3).

Анализ показал, что большинство пациентов ожидали трансплантацию в статусе 2 – 46,8%, в статусе 1B – 21,7% и в статусе 1A – 31,5% реципиентов.

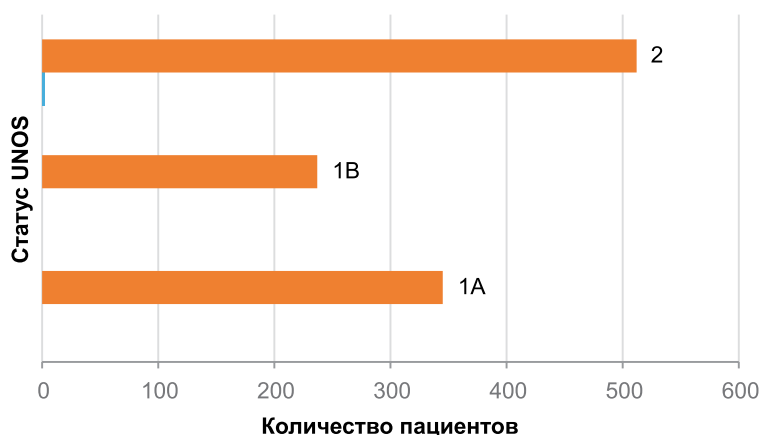


Рис. 3. Распределение реципиентов в листе ожидания в зависимости от статуса UNOS

Выживаемость реципиентов за весь анализируемый период времени с 1986-го по 2018 год была рассчитана с использованием метода Каплана–Мейера. В течение всего периода наблюдения летальность составила 372 пациента (34%). Таким образом, к концу 2018 года под наблюдением находилось 722 реципиента пересаженного сердца.

Медиана общей выживаемости для всех пациентов, которым была выполнена трансплантация сердца в период с 1986-го по 2018 г., составила 9,3 года (рис. 4).

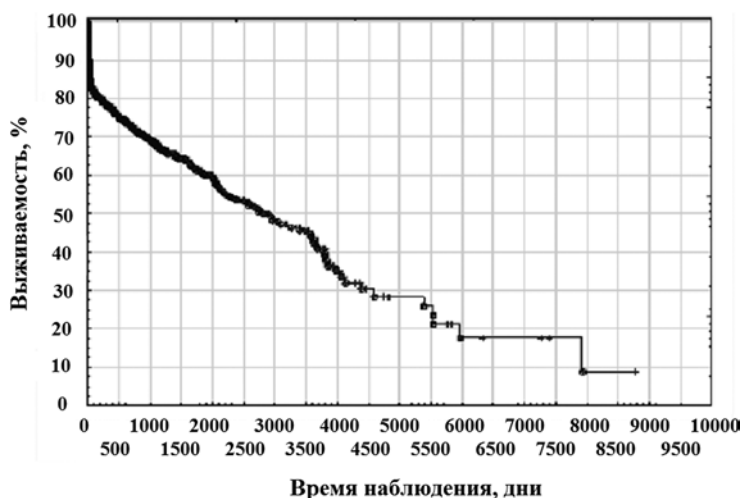


Рис. 4. Общая выживаемость пациентов, которым в период с 1986-го по 2018 год была выполнена трансплантация сердца

За весь период наблюдения с 1986-го по 2018 год летальность пациентов в первые 30 дней после трансплантации составила 168 пациентов (15,37%), из них 147 мужчин и 21 женщина.

При анализе выживаемости всех реципиентов, которым трансплантация сердца выполнялась в период с 1986-го по 2018 г. и переживших первые 30 дней после трансплантации, установлено, что медиана выживаемости составила 10,5 лет.

При сравнительном анализе отдаленной выживаемости лиц мужского и женского пола не было выявлено статистически значимых различий.

Медиана выживаемости среди реципиентов мужского пола, переживших первые 30 дней после трансплантации, составила 10,8 лет, женского пола – 10,2 года ($p > 0,05$).

При сравнении отдаленной выживаемости между реципиентами различных возрастных групп было выявлено статистически значимое различие между кривыми выживаемости (рис. 5).

Наилучшая выживаемость в отдаленном периоде после трансплантации сердца была среди лиц в возрасте от 40 до 59 лет ($p = 0,001$).

При сравнительном анализе выживаемости реципиентов с различным предтрансплантационным диагнозом установлено, что реципиенты с различными врожденными и приобретенными пороками сердца имеют худший прогноз выживаемости в сравнении с пациентами, у которых

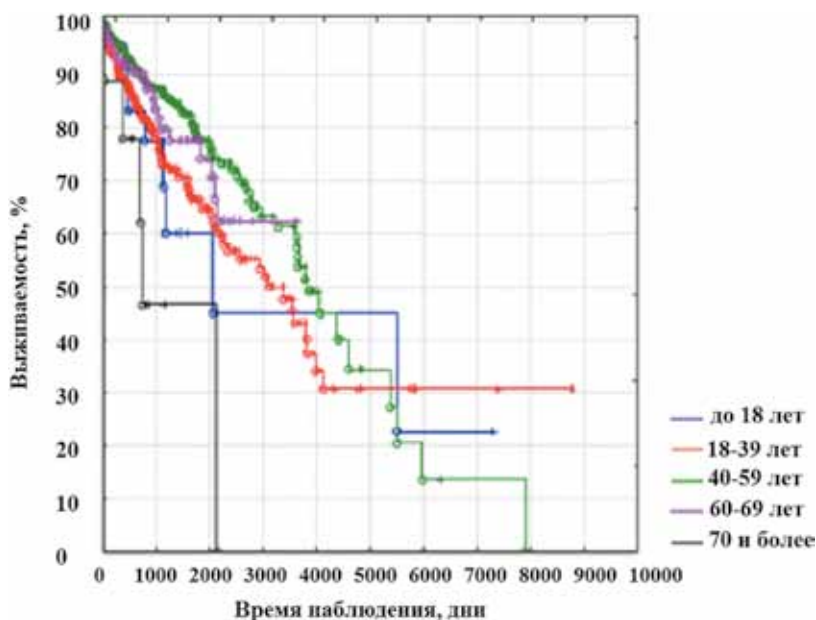


Рис. 5. Отдаленная выживаемость среди реципиентов разных возрастных групп

причиной развития терминальной стадии хронической сердечной недостаточности была дилатационная кардиомиопатия и ишемическая болезнь сердца.

На рис. 6 представлены кривые выживаемости реципиентов, ожидавших трансплантацию сердца в статусе UNOS 1A, 1B и 2.

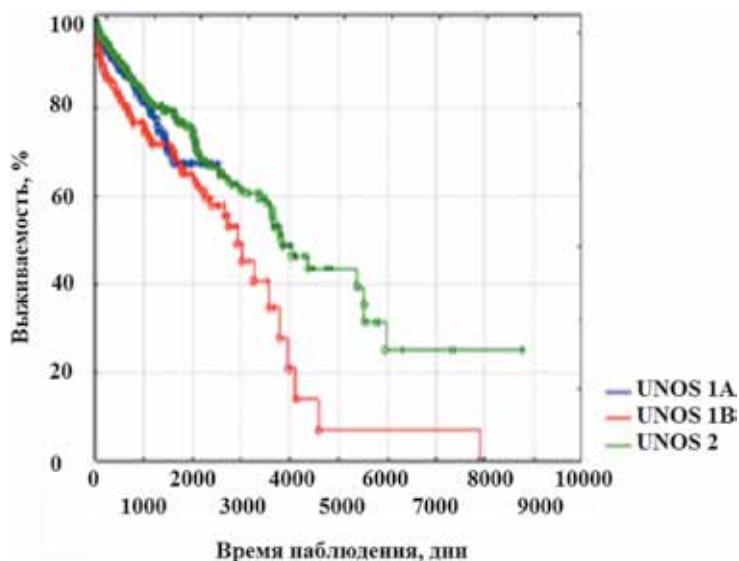


Рис. 6. Влияние статуса UNOS на прогноз выживаемости реципиентов сердца в отдаленном периоде

Сравнительный анализ выживаемости реципиентов в зависимости от предтрансплантационного статуса UNOS показал более высокую выживаемость среди реципиентов, находившихся до момента трансплантации сердца во втором статусе в сравнении с пациентами в статусе 1 (1A и 1B) ($p < 0,01$).

При попарном сравнении выживаемости между реципиентами, находившимися в статусе 1A и 1B, 1A и 2 и реципиентами в статусе 1B и 2 при помощи Log-Rank теста были найдены достоверные отличия влияния предтрансплантационного статуса на дальнейший прогноз реципиента.

Сравнительный анализ выживаемости пациентов в зависимости от пола донора не показал достоверных различий отдаленной выживаемости реципиентов ($p = 0,2$).

Медиана выживаемости среди реципиентов, получивших сердце от донора женского пола, была сопоставима с медианой выживаемости среди реципиентов, получивших трансплантат от лиц мужского пола.

В числе факторов, влияющих на отдаленную выживаемость реципиентов, в процессе многофакторного регрессионного анализа были выяв-

лены следующие значимые факторы, помимо исходно тяжелого статуса реципиента, определяемого по UNOS.

Анализ показал, что необходимость применения вспомогательного кровообращения – системы экстракорпоральной мембранной оксигенации в дотрансплантационном периоде, достоверно повышает риск развития неблагоприятных событий в отдаленном периоде и влияет на прогноз выживаемости. Наличие болезни коронарных артерий пересаженного сердца повышает эти риски в 1,4 раза (95%ДИ: 1,04–1,91).

Исследование эффективности иммуносупрессивной терапии с применением ингибитора пролиферативного сигнала эверолимуса у реципиентов сердца

Применение ингибитора пролиферативного сигнала эверолимуса в качестве одного из компонентов поддерживающей иммуносупрессивной терапии позволяет значимо снизить дозу ингибитора кальциневрина и тем самым минимизировать его побочные действия на органы-мишени. Однако в настоящее время недостаточно данных о преимуществе использования эверолимуса в качестве «альтернативного» иммуносупрессивного средства.

В связи с этим, одной из задач нашего исследования явилось оценить эффективность протокола иммуносупрессивной терапии с применением эверолимуса и провести сравнительный анализ эффективности использования указанного протокола иммуносупрессивной терапии в сравнении со «стандартной» схемой, включающей ингибитор кальциневрина в сочетании с препаратами микофеноловой кислоты.

Анализ был проведен у 577 пациентов, прооперированных за период с января 2013-го по декабрь 2018 года. Начиная с 2017 года, конверсия на эверолимус была выполнена у 3,8% (n = 29) реципиентов. Таким образом, из 577 реципиентов трансплантированного сердца 548 человек в качестве поддерживающей иммуносупрессивной терапии принимали ингибиторы кальциневрина в сочетании с микофеноловой кислотой и глюкокортикостероидами (далее обозначено как «стандартный протокол»), 29 пациентов получали такролимус в редуцированной дозе в сочетании с ингибитором пролиферативного сигнала и глюкокортикостероидами (далее условно обозначено как подгруппа «эверолимус»). Конверсия проводилась в отдаленном периоде после трансплантации сердца (не ранее трех месяцев после перенесенного оперативного вмешательства). До начала применения эверолимуса все 577 реципиентов трансплантированного сердца находились на «стандартной» иммуносупрессивной терапии.

Не было достоверных различий среднего возраста реципиентов, принимавших ингибитор пролиферативного сигнала, и «стандартную» иммуносупрессивную терапию. Возраст пациентов в подгруппе составил

48,4 ± 16,6 и 47,3 ± 12,9 лет соответственно ($p = 0,76$). Также не было достоверных отличий в среднем времени наблюдения после трансплантации сердца, которое составило 1078,4 ± 657,3 дней для реципиентов, у которых была конверсия на ингибиторы m-TOR и 1140,8 ± 600,7 дней для пациентов, принимавших стандартную иммуносупрессивную терапию.

Для замедления развития и/или прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца у 29 реципиентов была произведена смена иммуносупрессивного режима, из них у 19 реципиентов с целью конверсии была также нефропротекция с целью сохранения функции почки, у троих снижение риска развития злокачественных новообразований.

Оценка функции почек осуществлялась на основании показателей уровня креатинина в сыворотке крови и скорости клубочковой фильтрации до трансплантации, перед конверсией на ингибитор m-TOR, через месяц, шесть месяцев и один год после начала приема эверолимуса.

На момент выписки из стационара не было статистически значимого различия между уровнями креатинина в сыворотке крови у реципиентов, в последующем нуждавшихся в конверсии на ингибитор m-TOR и пациентами, продолжающими принимать препараты микофеноловой кислоты. Средние значения креатинина в сыворотке крови составили 130,13 ± 68,74 и 138,46 ± 71,32 мкмоль/л соответственно, $p = 0,41$.

На рис. 7 представлена динамика показателей уровня сывороточного креатинина (мкмоль/л) в двух сравниваемых группах, оцененная непосредственно

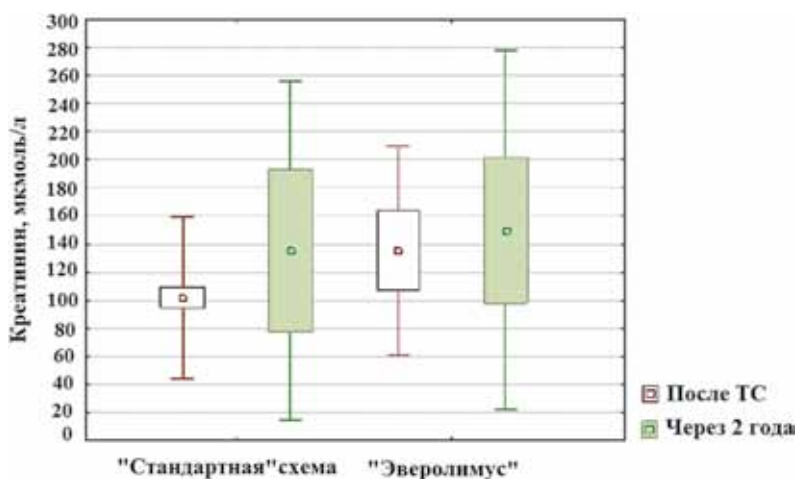


Рис. 7. Показатели концентрации сывороточного креатинина в сыворотке крови (мкмоль/л) в группах реципиентов, принимавших «стандартную» иммуносупрессивную терапию, и реципиентов, у которых произведена конверсия на эверолимус

редственно перед конверсией, через 30 дней после трансплантации и через два года после трансплантации сердца.

Как видно из рис. 7, реципиенты, у которых произведена конверсия на ингибиторы m-TOR, исходно имели несколько повышенные показатели содержания креатинина, хотя достоверной разницы в этих показателях непосредственно перед конверсией (через 30 дней после трансплантации) и через два года выявлено не было.

Также была проведена сравнительная оценка скорости клубочковой фильтрации непосредственно перед выпиской реципиентов из стационара и через два года после перенесенного оперативного вмешательства (рис. 8).

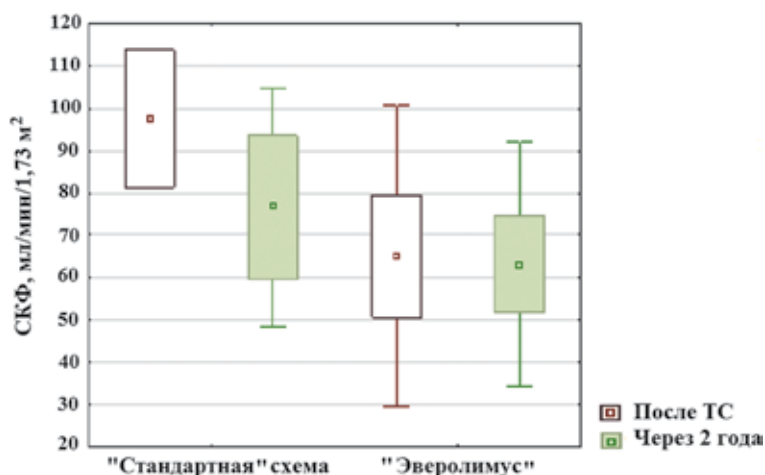


Рис. 8. Показатели СКФ у реципиентов сердца, находившихся на «стандартной» иммуносупрессивной терапии и в подгруппе пациентов, получавших иммуносупрессию по схеме «Эверолимус»

Как видно из рис. 8, через два года после трансплантации было отмечено достоверное снижение СКФ в одной из анализируемых групп ($p = 0,05$), а именно в группе «стандартной» иммуносупрессии.

В группе реципиентов, принимавших эверолимус, не было достоверных изменений оцениваемых показателей ($p = 0,6$).

Таким образом, за период наблюдения на фоне приема эверолимуса не было отмечено достоверного улучшения показателей почечной функции, однако за период наблюдения мы также не отметили прогрессирования почечной недостаточности среди данной группы реципиентов, что свидетельствует о положительном нефропротективном эффекте выбранной нами схемы иммуносупрессивной терапии (креатинин после ТС = 135,24 мкмоль/л vs. креатинин после ТС через 2 года

149,67 мкмоль/л, $p = 0,60$). Напротив, среди реципиентов, принимавших препараты микофеноловой кислоты («стандартная» схема иммуносупрессии), отмечалась тенденция к развитию почечной недостаточности на фоне длительного приема ингибиторов кальциневрина (креатинин после ТС = 101,98 мкмоль/л vs. креатинин после ТС через 2 года 138,29 мкмоль/л, $p = 0,03$).

Помимо назначения эверолимуса с целью достижения нефропротективного эффекта у всех 29 реципиентов препарат был назначен для профилактики развития и/или замедления прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца.

Несмотря на выполненную конверсию на эверолимус, на контрольной коронарографии через 12 месяцев только у девяти из 29 пациентов были диагностированы интактные коронарные артерии (CAV-0), у большинства реципиентов отмечалось начальное поражение коронарного русла (CAV-1), диффузное поражение коронарных артерий (CAV-3) было выявлено у одного пациента (табл. 3).

Таблица 3

Степень тяжести поражения коронарных артерий через 12 месяцев наблюдения

Степень тяжести поражения коронарных артерий	Тас/Эверолимус, n = 29	Так/ММФ, n = 544	p
CAV-0	9 (31%)	281 (51,7%)	0,02
CAV-1	16 (55,2%)	203 (37,3%)	0,06
CAV-2	3 (10,3%)	37 (6,8%)	0,54
CAV-3	1 (3,4%)	23 (4,2%)	0,82

Как видно из табл. 3, пациенты, принимавшие такролимус в сочетании с препаратами микофеноловой кислоты, имели более тяжелую степень поражения коронарных артерий в сравнении с реципиентами, принимавшими эверолимус спустя 12 месяцев (рис. 9).

Результаты проведенного исследования показали, что, несмотря на проводимую терапию, у ряда пациентов отмечалось развитие болезни коронарных артерий пересаженного сердца. При сравнении пациентов, принимавших «стандартную» иммуносупрессивную терапию, и группы «эверолимус» не было выявлено статистически значимых различий.

Особенности подбора дозы препарата и динамика показателей концентрации иммуносупрессантов в цельной крови реципиента

Анализ проводили в двух сравниваемых группах реципиентов после снижения суточной дозы такролимуса и достижения равновесной целевой концентрации эверолимуса в цельной крови. Через месяц после конвер-

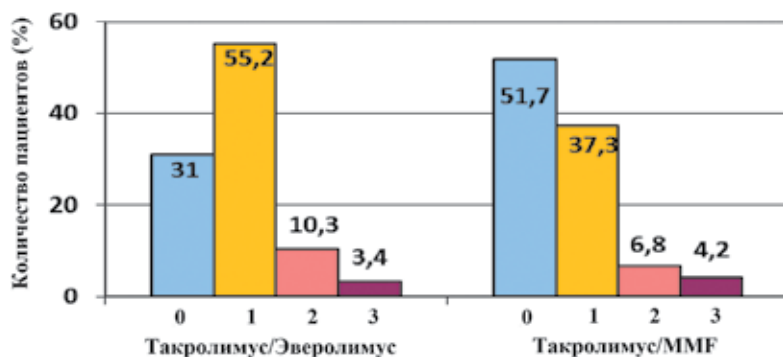


Рис. 9. Сравнительная оценка степени тяжести поражения коронарного русла у реципиентов сердца спустя 12 месяцев после трансплантации. 0 – CAV-0; 1 – CAV-1; 2 – CAV-2; 3 – CAV-3

сии на эверолимус доза такролимуса составила $4,7 \pm 1,8$ мг в сравнении с $5,4 \pm 1,6$ мг у реципиентов, принимавших стандартную иммуносупрессию ($p = 0,031$). На рис. 10 показана средняя суточная доза такролимуса до начала конверсии на ингибитор пролиферативного сигнала, а также ее изменение через год и два года после конверсии.

Использование эверолимуса позволило снизить дозу такролимуса, которая через год наблюдения составила $4,7 \pm 1,9$ мг, а через два года $3,7 \pm 2,5$ в сравнении с $4,1 \pm 2,4$ и $4,0 \pm 2,3$ мг среди реципиентов, продолжавших принимать препараты микофеноловой кислоты. Различия между группами в величине дозы такролимуса достоверны спустя 2 года ($p = 0,05$).

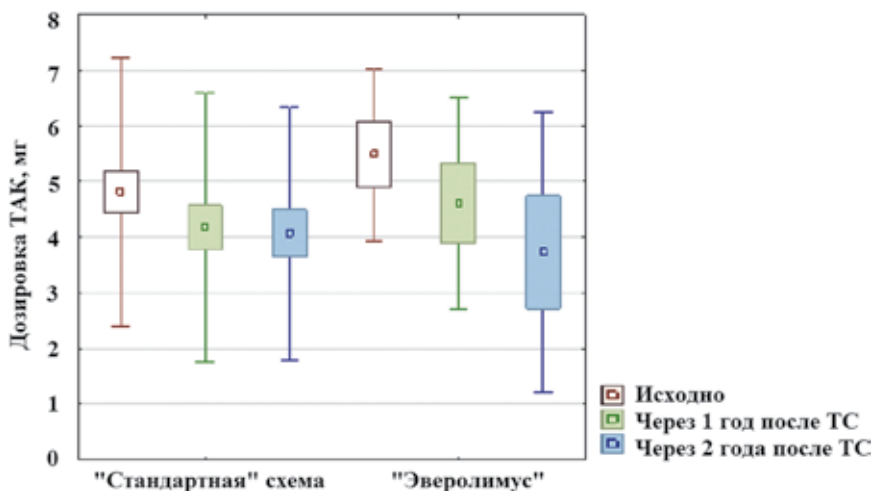


Рис. 10. Динамика изменения дозы такролимуса на фоне приема эверолимуса

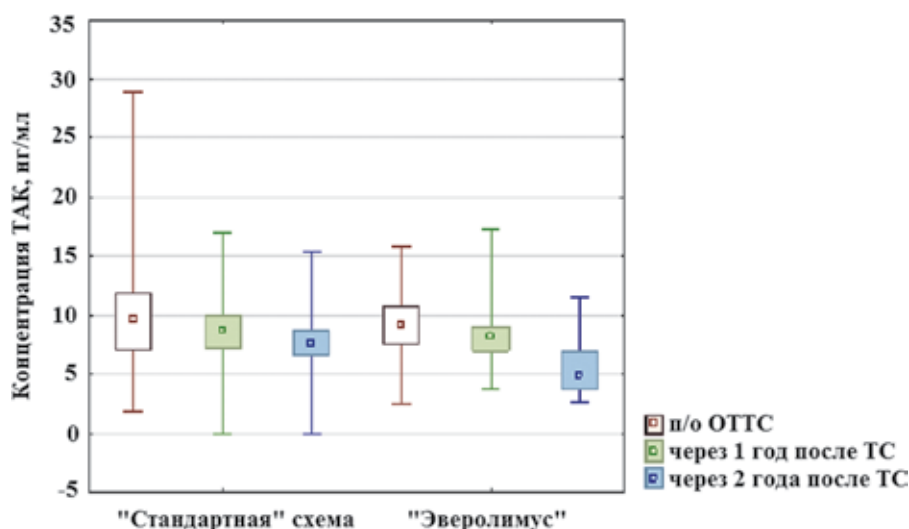


Рис. 11. Динамика снижения концентрации такролимуса в цельной крови на фоне приема эверолимуса

На рис. 11 показан сравнительный анализ изменения концентрации такролимуса в цельной крови в различные временные интервалы в двух группах реципиентов: получающих «стандартную» схему иммуносупрессии, и реципиентов, которым произведена конверсия на эверолимус на фоне снижения дозы такролимуса.

У реципиентов на фоне приема эверолимуса достигнуто снижение целевой концентрации такролимуса, которая через год наблюдения составила $8,3 \pm 2,5$ мг; через два года этот показатель составил $5,7 \pm 2,2$ в сравнении с $8,7 \pm 2,7$ и $7,5 \pm 2,1$ мг среди реципиентов, продолжавших принимать препараты микофеноловой кислоты. Лабораторный мониторинг концентраций иммуносупрессантов в крови осуществлялся во время плановых обследований.

Результаты настоящего исследования показали, что назначение эверолимуса в сочетании с такролимусом позволило достоверно снизить дозу ингибитора кальциневрина, что в свою очередь привело к уменьшению целевой концентрации препарата в цельной крови реципиентов ($p = 0,05$).

Оценка переносимости ингибитора антипролиферативного сигнала, применяемого в схеме иммуносупрессивной терапии, и его влияния на показатели обмена липидов у реципиентов сердца

В ходе наблюдения у всех 29 пациентов, которым была выполнена конверсия на эверолимус, не потребовалось отмены препарата. Среди наблюдаемых реципиентов не было диагностировано кризов острого оттор-

жения и/или дисфункции трансплантата, а также развития побочных эффектов от приема препарата. На основании проведенных исследований, можно сделать заключение о хорошей эффективности и переносимости препарата при использовании в схеме иммуносупрессивной терапии у реципиентов пересаженного сердца.

Длительный прием эверолимуса сопровождается нарушением метаболического обмена с развитием гиперхолестеринемии, гиперлипидемии и гипертриглицеридемии, что, в свою очередь, является фактором риска развития неблагоприятных сердечно – сосудистых событий.

Анализ лабораторных показателей липидного обмена среди пациентов, принимавших ингибиторы m-TOR, представлен в табл. 4.

Таблица 4

**Динамика показателей липидного обмена у реципиентов,
принимающих эверолимус**

Время после ТС	Лабораторные показатели				
	Общий холестерин, ммоль/л	ЛПНП, ммоль/л	ЛПВП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	ИА
До конверсии	$3,4 \pm 0,8$	$2,1 \pm 1,1$	$1,3 \pm 0,4$	$1,4 \pm 1,3$	$1,8 \pm 1,1$
6 мес. после конверсии	$4,3 \pm 1,3$	$2,4 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,7$	$1,4 \pm 0,7$	$2,5 \pm 1,5$
12 мес. после конверсии	$4,6 \pm 1,5$	$2,7 \pm 1,0$	$1,4 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,7$	$1,9 \pm 0,9$
$P_{\text{до конв.}-6 \text{ мес.}}$	0,001	0,041	0,2	0,7	0,001
$P_{\text{до конв.}-12 \text{ мес.}}$	0,001	0,001	0,5	0,1	0,1

Примечание. ЛПНП – липопротеиды низкой плотности; ЛПВП – липопротеиды высокой плотности; ТГ – триглицериды; ИА – индекс атерогенности.

Как видно из табл. 4, на фоне приема эверолимуса через 6 месяцев было выявлено достоверное повышение уровня общего холестерина, липопротеидов низкой плотности. Через двенадцать месяцев наблюдения отмечалась тенденция к повышению уровня триглицеридов, не достигая уровня достоверности.

Через год и два года наблюдения величина уровня общего холестерина была достоверно выше среди реципиентов, которым произведена конверсия на эверолимус, и составил $4,6 \pm 1,5$ и $4,9 \pm 1,7$ нг/мл соответственно в сравнении с $4,1 \pm 1,1$ и $4,2 \pm 1,2$ нг/мл среди реципиентов, продолжавших принимать препараты микофеноловой кислоты ($p < 0,05$ в обоих случаях).

Анализ показателей обмена липидов показал достоверные различия среди двух групп пациентов. Среди реципиентов, принимавших эверолимус, было выявлено более значимое повышение уровней общего холестерина, липопротеидов низкой плотности, а также тенденция к более высокому уровню триглицеридов.

Результаты настоящего фрагмента исследования показали, что назначение ингибиторов пролиферативного сигнала оправдано у реципиентов сердца с клиническими проявлениями нарушения функции почки, прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца и риском развития злокачественных новообразований. Применение эверолимуса в составе комплексной иммуносупрессивной терапии позволяет улучшить прогноз выживаемости без нежелательных событий реципиентов в отдаленные сроки после трансплантации сердца.

Анализ эффективности медикаментозных препаратов, влияющих на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС), в комплексной терапии реципиентов сердца

Развитие фиброза миокарда трансплантированного сердца лежит в основе патогенеза сердечной недостаточности – часто субклинической, либо проявляющейся клиническими признаками дисфункции трансплантата у реципиентов в отдаленные сроки после трансплантации сердца. Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца, кризы острого клеточного и антителоопосредованного отторжения, длительная иммуносупрессивная терапия, посттрансплантационная артериальная гипертензия, денервация донорского органа и др. – вот неполный перечень факторов, влияющих на развитие фиброза миокарда.

Лекарственные препараты ингибиторов АПФ и блокаторов рецепторов к ангиотензину способствует уменьшению биодоступности ангиотензина II, тем самым препятствуя проявлению негативных эффектов последнего; спиронолактон является структурным аналогом альдостерона, блокирующим рецепторы к этому минералокортикоидному гормону, оказывая натрийуретическое, диуретическое действие; препятствуя негативным эффектам альдостерона, оказывая вазо- и кардиопротективное действие.

У реципиентов сердца мало изучена возможность получения позитивного эффекта при приеме, в дополнение к обязательной иммуносупрессивной терапии, лекарственных препаратов, влияющих на РААС, в качестве средств, замедляющих развитие фиброза миокарда и для лечения посттрансплантационной артериальной гипертензии.

Проведен анализ 681 пациента, которым в период с 10 января 2010 года по 29 декабря 2017 года была выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Из 681 пациента, включенных в исследование, 54 реципиента были госпитализированы в стационар по поводу поздней дисфункции трансплантата.

Наличие хронической сердечной недостаточности при сохранной фракции выброса левого желудочка с признаками его диастолической дисфункции у реципиентов были диагностированы по данным эхокардиографического исследования (рис. 12).

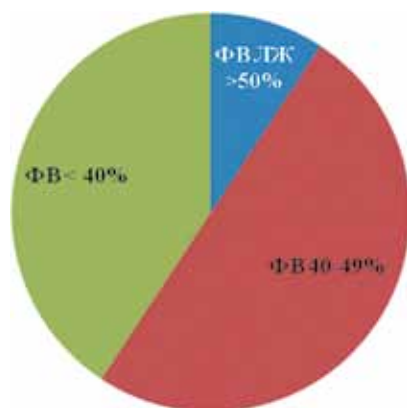


Рис. 12. Показатели ФВ ЛЖ у реципиентов с дисфункцией трансплантата

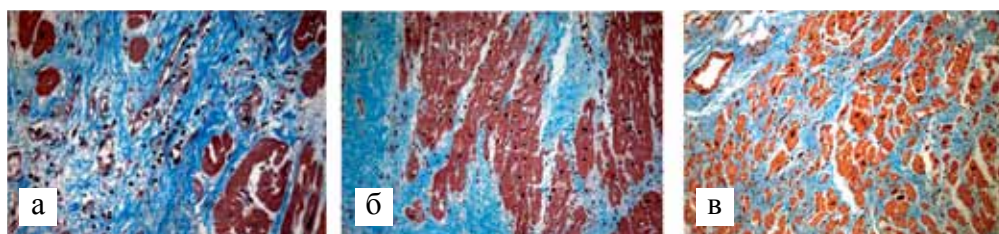


Рис. 13. Варианты фибротических изменений, выявленных при гистологическом исследовании эндомикардиальных биоптатов. Окраска по Массону. ×200

Как видно из рис. 12, фракция выброса более 50% была диагностирована у 5 реципиентов; от 40 до 49% – у 27 реципиентов и менее 40% – у 22 реципиентов. Таким образом, большинство реципиентов имело дисфункцию трансплантата по рестриктивному типу и симптомы сердечной недостаточности при сохранной и/или незначительно сниженной сократительной способности миокарда левого желудочка.

Во всех 54 случаях (100%) по результатам эндомикардиальной биопсии был диагностирован выраженный фиброз миокарда (рис. 13, а, б, в).

У реципиентов с дисфункцией сердечного трансплантата по результатам патоморфологического исследования биоптата был диагностирован выраженный фиброз миокарда, с замещением кардиомиоцитов соединительной тканью.

Иммуносупрессивная терапия, которую получали реципиенты двух подгрупп, представлена в табл. 5.

Все реципиенты пересаженного сердца принимали терапию ингибиторами кальциневрина и препаратами микофеноловой кислоты. Среди

Таблица 5

**Иммуносупрессивная терапия, которую получали реципиенты
двух подгрупп**

Терапия, n (%)	Все пациенты (n = 681)	Реципиенты с дисфункцией трансплантата (n = 54)	Реципиенты без дисфункции трансплантата (n = 627)
Такролимус	672 (98,8)	51	621
Циклоспорин	9 (1,2)	3 (5,5)	6 (0,9)
ММФ	681 (100)	54 (100)	621 (100)
Стероиды перорально	104 (15,3)	43 (79,6)	61 (9,7)
Статины	239 (35,1)	18 (33,6)	221 (35,2)

Примечание. ММФ – микофенолата мофетил.

реципиентов с дисфункцией трансплантата 79,6% реципиентов принимали кортикостероиды по поводу лечения кризов отторжения трансплантата; среди реципиентов с сохранной функцией трансплантата кортикостероиды принимали 9,7% пациентов. По процентному соотношению в отношении приема препаратов, влияющих на активность РААС, и антилипидемических средств достоверных различий выявлено не было. У 9 реципиентов с дисфункцией трансплантата с целью лечения дисфункции проводились дополнительные активные методы лечения, включающие в себя пульс-терапию стероидами, сеансы плазмафереза и/или введение моноклональных антител.

Оценка влияния гипертрофии миокарда на клинические результаты трансплантации показала следующее. По данным эхокардиографического исследования толщина задней стенки левого желудочка трансплантата в среднем составила $1,4 \pm 0,3$ (от 0,7 до 2,2) см, в зависимости от величины этого показателя, определяемого на разных сроках трансплантации сердца. У 54 реципиентов с диагностированной дисфункцией сердечного трансплантата и 156 пациентов с сохранной функцией этот показатель составил более 12 мм (от 12 до 22 мм), в остальных 471 случаях толщина задней стенки левого желудочка не превышала 12 мм. За весь период наблюдения из 54 реципиентов подгруппы с дисфункцией трансплантата 16 пациентам была выполнена ретрансплантация сердца.

Ингибиторы АПФ были назначены у 167 (71,3%) реципиентов с артериальной гипертензией: лизиноприл в дозе от 2,5 до 5 мг/сут получали 38 пациентов, периндоприл в дозе от 2,5 до 10 мг/сут – 112 пациентов, рамиприл в дозе от 5 до 10 мг/сут – 17 пациентов (рис. 14).

Помимо ингибиторов АПФ в качестве антигипертензивной терапии 67 реципиентов получали антагонисты кальция, комбинированная тера-

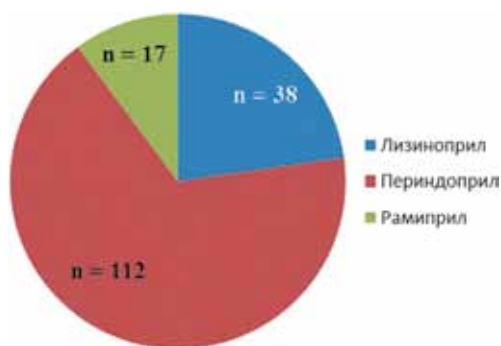


Рис. 14. Препараты ингибиторов АПФ, назначаемые реципиентам сердца, включенным в исследование

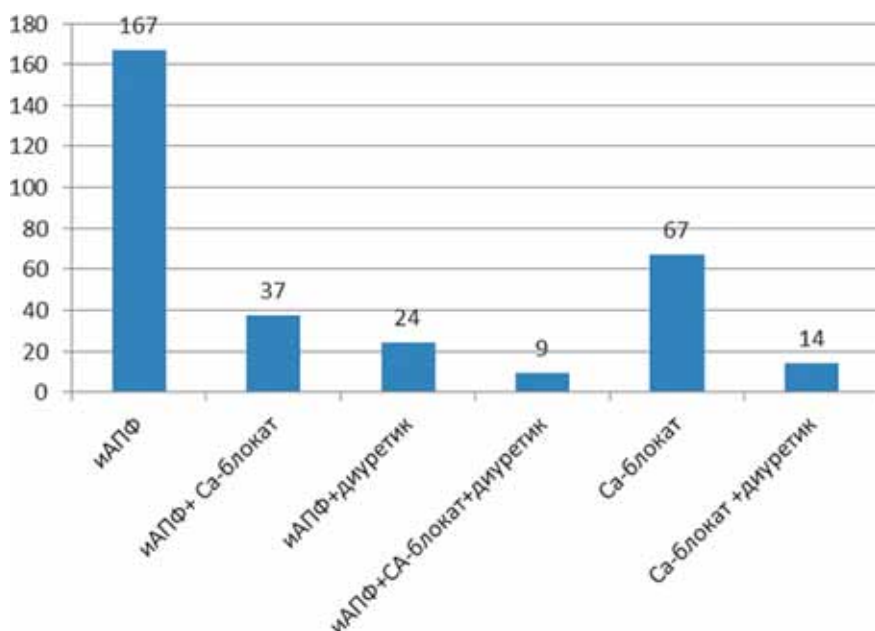


Рис. 15. Медикаментозная терапия артериальной гипертензии у реципиентов пересаженного сердца

пия иАПФ + антагонист Са была назначена у 37 пациентов. При плохо контролируемой артериальной гипертензии в качестве антигипертензивной терапии реципиентам сердца также могли назначаться ингибитора АПФ в сочетании и с диуретиком, и с антагонистом Са (рис. 15).

Большинство реципиентов сердца получали монотерапию препаратами иАПФ (при их непереносимости назначались блокаторы рецепторов к ангиотензину, БРА).

Анализ выживаемости без нежелательных событий реципиентов сердца, принимающих и не принимающих ингибиторы АПФ (БРА) в качестве антигипертензивных средств

За время наблюдения число нежелательных событий составило 81 (26,7%) у реципиентов, не принимавших после трансплантации препараты иАПФ (БРА), 22 (10,1%) у реципиентов, принимавших эти препараты.

Вероятность нежелательных событий в подгруппе реципиентов сердца, не принимавших иАПФ выше в 2,2 раза, в сравнении с подгруппой пациентов, которые принимали препараты, влияющие на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (ОШ = 2,2, 95% ДИ: 1,3–3,9).

Средняя выживаемость без нежелательных событий в течение периода наблюдения в подгруппах реципиентов сердца, не принимавших иАПФ (БРА) и получавших эти лекарственные средства в дополнение к иммуносупрессивной терапии, соответственно, составила $1224,0 \pm 55,7$ и $1610,9 \pm 45,1$ дней.

На рис. 16 представлены кривые выживаемости у реципиентов сердца, находившихся на терапии препаратами иАПФ (БРА) и не принимавших таковые.

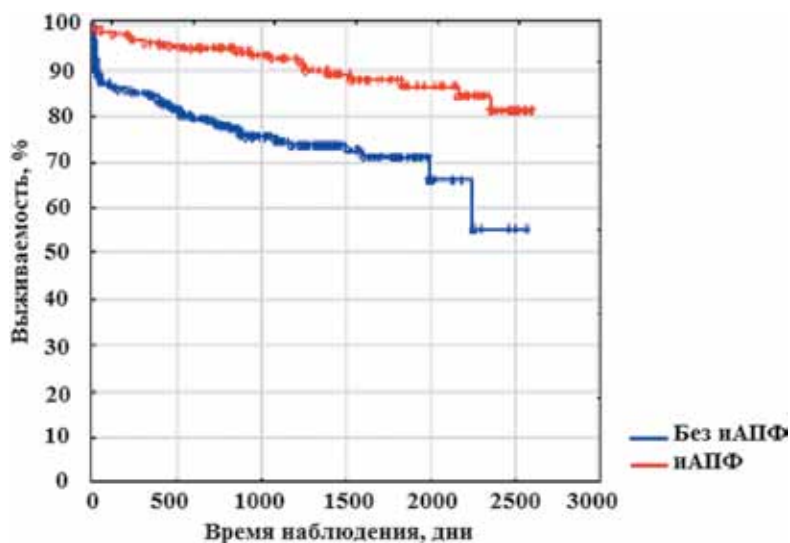


Рис. 16. Влияние иАПФ на выживаемость реципиентов сердца в отдаленном послеоперационном периоде

Выживаемость в двух подгруппах имела достоверные различия и была выше среди пациентов, принимавших ингибиторы АПФ по поводу артериальной гипертензии ($p = 0,001$).

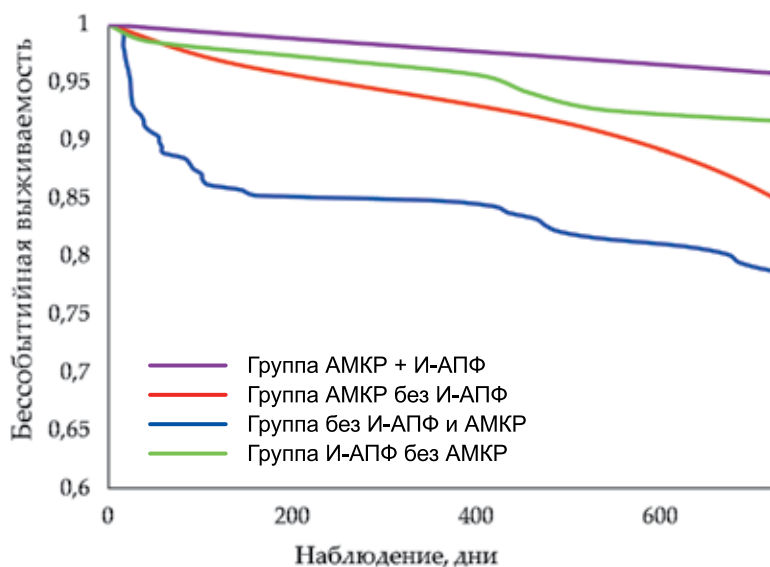


Рис. 17. Выживаемость без нежелательных событий реципиентов сердца, включенных в исследование. АМКР – антагонисты минералкортикоидных рецепторов, иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

Сравнительный анализ выживаемости реципиентов в зависимости от комбинаций принимаемой медикаментозной терапии представлен на рис. 17.

Наиболее благоприятный прогноз отмечался у реципиентов, принимающих комбинированную терапию антагонистом минералкортикоидных рецепторов спиронолактоном с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента.

Таким образом, полученные в ходе анализа результаты показывают, что у реципиентов сердца дисфункция трансплантата, приводящая к нежелательным сердечно-сосудистым событиям, связана с развитием фиброза миокарда на фоне кризов острого отторжения трансплантата, течения хронического отторжения трансплантата, посттрансплантационной артериальной гипертензии в сочетании с сахарным диабетом и нарушением функции почки. При анализе эффективности дополнительной медикаментозной терапии, принимаемой в комбинации с иммуносупрессивной терапией, установлено, что частота развития нежелательных событий в отдаленном периоде после трансплантации сердца была значительно ниже среди пациентов, получавших комплексное медикаментозное лечение. Применение блокаторов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и антагонистов минералкортикоидных рецепторов в сочетании с им-

муносупрессивной терапией достоверно улучшает отдаленный прогноз у реципиентов сердца.

При сравнении кривых выживаемости было показано, что у реципиентов сердца, принимающих ингибиторы АПФ в комбинации с антагонистами минералкортикоидных рецепторов, прогноз выживаемости лучше, в сравнении с реципиентами, не получавшими данного вида медикаментозного лечения.

Полученные в данной главе результаты позволяют сделать вывод о том, что применение АМКР улучшает выживаемость без нежелательных событий и снижает риск сердечно-сосудистых осложнений в отдаленном периоде после ортотопической трансплантации сердца.

Ингибиторы ГМГ – КоА – редуктазы (статины) в комплексной терапии реципиентов пересаженного сердца

Помимо положительного эффекта направленного на нормализацию липидного обмена, у данной категории пациентов целесообразность приема статинов обусловлена их плеiotропными свойствами включающими: стимуляцию апоптоза, ингибирование ангиогенеза, подавление действия цитокинов и уменьшение уровня циркулирующих моноцитов.

Учитывая выше сказанное, одной из целей нашего исследования было оценить влияние ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы на прогноз выживаемости без нежелательных сердечно – сосудистых событий у реципиентов трансплантированного сердца.

Помимо иммуносупрессивной терапии в сочетании с ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы в качестве комбинированной терапии часть реципиентов трансплантированного сердца принимали блокаторы ренин – ангиотензин альдостероновой системы и блокаторы минералкортикоидных рецепторов (рис. 18).

Ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы в сочетании с блокаторами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы принимали 133 реципиента, 61 пациент принимал статины в сочетании с блокаторами минералкортикоидных рецепторов, остальные 25 и 20 пациентов принимали иАПФ и спиронолактон в сочетании с ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы соответственно.

Сравнительный анализ кривых выживаемости без нежелательных событий среди реципиентов сердца, которым были назначены препараты статинов, и пациентов группы сравнения при помощи лог-рангового метода также показал достоверность различий между группами ($\log \text{rank } p < 0,001$) (рис. 19).

Сравнение лог-ранговым методом кривых выживаемости без нежелательных событий реципиентов трансплантированного сердца, получавших разные препараты статинов, не выявил достоверных различий.

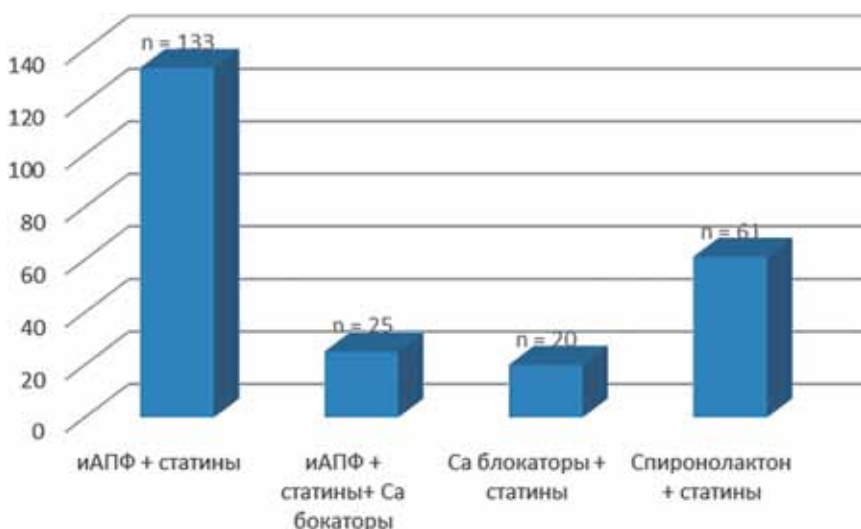


Рис. 18. Комбинации медикаментозной терапии реципиентов трансплантированного сердца

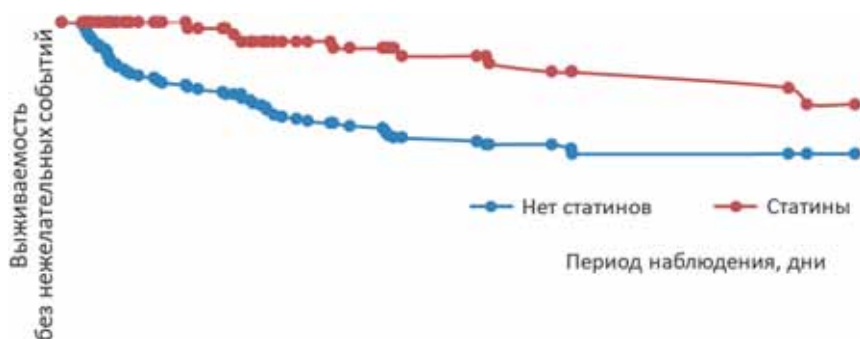


Рис. 19. Сравнение кривых выживаемости без нежелательных событий у реципиентов трансплантированного сердца, принимающих статины, и пациентов группы сравнения (log rank $p < 0,001$)

Среди реципиентов сердца, включенных в анализ, у 30 был сахарный диабет 2-го типа, контролируемый при помощи пероральных средств. Одиннадцати пациентам были назначены статины. Частота развития нежелательных событий на фоне приема статинов была ниже, чем в основной группе, однако различия не достигли уровня статистической значимости, но носили характер тенденции (рис. 20).

Среди включенных в анализ 248 реципиентов трансплантированного сердца без сахарного диабета статины были назначены 60 пациентам.

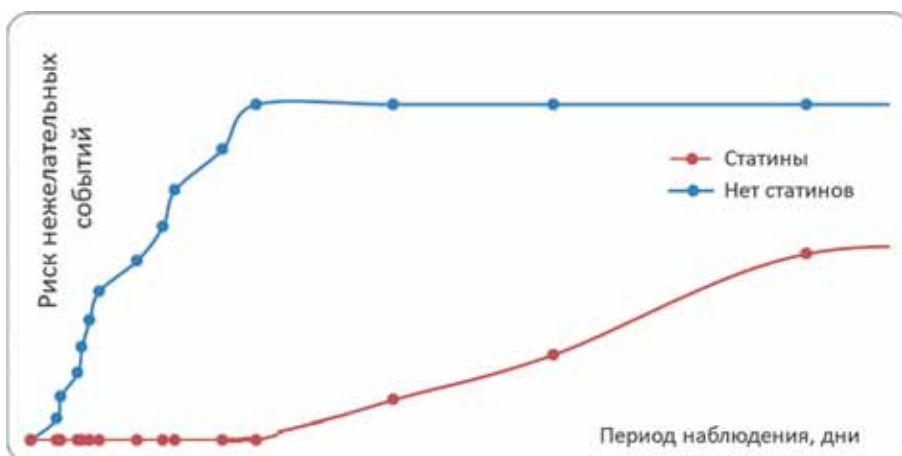


Рис. 20. Сравнение кривых выживаемости без нежелательных событий у реципиентов сердца с сахарным диабетом 2-го типа, получающих и не получающих статины (log rank $p < 0,051$)

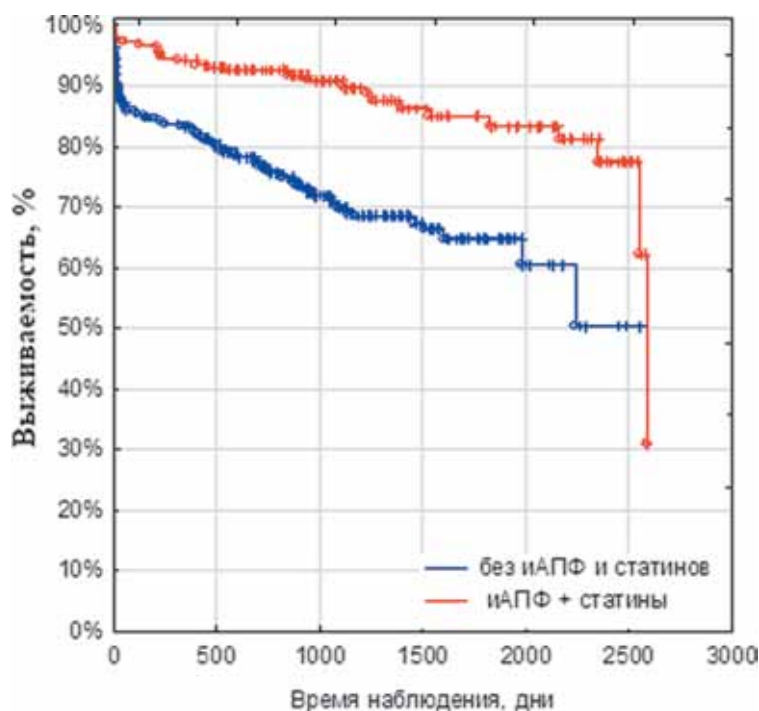


Рис. 21. Анализ выживаемости среди реципиентов, принимающих комбинацию статинов с иАПФ и не принимающих данные группы препаратов ($p < 0,002$)

Частота развития нежелательных событий на фоне приема статинов была достоверно ниже, чем в основной группе ($p = 0,04$).

Сравнительный анализ кривых выживаемости без нежелательных событий среди реципиентов сердца, которым не были назначены ингибиторы ГМГ-КоА редуктазы в сочетании с ингибиторами ренин – ангиотензин – превращающего фермента при помощи лог-рангового метода показал худший прогноз выживаемости среди пациентов, не принимавших данные группы препаратов ($\log \text{rank } p < 0,002$) (рис. 21).

Сравнительный анализ кривых выживаемости без нежелательных событий среди реципиентов сердца, которым не были назначены препараты ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы в сочетании с ингибиторами ренин – ангиотензин – превращающего фермента, реципиентами, принимающими только иАПФ и сочетанная терапия статинами и ингибиторами ренин – ангиотензин – превращающего фермента при помощи лог-рангового метода показал, что наилучший прогноз выживаемости отмечался у реципиентов, принимавших сочетанную медикаментозную терапию ($p < 0,001$).

Выводы

1. Наиболее значимым независимым фактором, оказывающим влияние на исходы трансплантации сердца в когорте пациентов, оперированных за весь период 1986–2018 гг., явилось время выполнения операции: выживаемость реципиентов, переживших первые 30 дней после трансплантации, составила 10,5 лет; в 2007–2009 гг. отмечается улучшение выживаемости в 1,4 раза (95%ДИ 1,2–1,6, $p < 0,005$) в сравнении с более ранними интервалами времени; с 2013–2015 гг. – отсутствие достоверных различий с предшествующими годами, что указывает на замедление динамики улучшения отдаленных клинических результатов.
2. У реципиентов сердца, принимающих в составе иммуносупрессивной терапии ингибитор пролиферативного сигнала эверолимус в комбинации с такролимусом, выживаемость без нежелательных событий не хуже, чем у реципиентов, протокол иммуносупрессии которых включает комбинацию такролимуса и производных микофеноловой кислоты.
3. Конверсия препарата микофеноловой кислоты на эверолимус, в составе комбинированной иммуносупрессивной терапии у реципиентов при почечной недостаточности после трансплантации сердца оказывает нефропротективное действие: повышение скорости клубочковой фильтрации и снижение уровня креатинина в сыворотке крови в первый месяц, с сохранением стабильного уровня креатинина в течение двух лет наблюдения.

4. Назначение ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (или блокаторов рецепторов к ангиотензину) дополнительно к иммуносупрессивной терапии улучшает выживаемость без нежелательных событий у реципиентов трансплантированного сердца в течение $1556,2 \pm 42,9$ дней после трансплантации сердца.
5. Назначение антиминералкортикоидного средства (спиронолактона) сопровождается увеличением выживаемости без нежелательных событий и снижением частоты развития нежелательных событий у реципиентов трансплантированного сердца.
6. У реципиентов сердца, получающих спиронолактон в комбинации с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, прогноз отдаленной выживаемости без нежелательных событий более благоприятен, чем у реципиентов, не получающих, либо получающих по отдельности указанные препараты, что может служить обоснованием включения антагониста минералкортикоидных рецепторов спиронолактона в комбинации с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента в схему медикаментозной терапии реципиентов трансплантированного сердца.
7. Прием препаратов ГМГ-КоА-редуктазы в составе комплексной медикаментозной терапии связан с достоверно более высокой выживаемостью реципиентов сердца, в сравнении с реципиентами, не принимающими статины ($p < 0,001$).
8. На фоне приема статинов частота развития нежелательных событий у реципиентов без сахарного диабета достоверно ниже ($p = 0,04$), а у реципиентов с контролируемым при помощи медикаментозных средств сахарным диабетом 2 типа – имеет тенденцию к снижению в сравнении с реципиентами, не получающими статины.
9. Наилучший прогноз выживаемости без нежелательных событий в течение $1863,9 \pm 54,3$ дней после трансплантации имеет место у реципиентов сердца, получающих в составе комплексной медикаментозной терапии ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы в комбинации с ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента.

Практические рекомендации

1. Назначение ингибиторов пролиферативного сигнала оправдано у реципиентов сердца с клиническими проявлениями нарушения функции почек, прогрессирования васкулопатии трансплантата, риском развития злокачественных новообразований.
2. На фоне комбинации иммуносупрессивных препаратов, включающих ингибитор пролиферативного сигнала эверолимус и такролимус, рекомендуется осуществлять регулярный контроль показа-

телей обмена липидов и учитывать их изменения при назначении дополнительной медикаментозной терапии.

3. В качестве антигипертензивной терапии у реципиентов сердца целесообразно использование ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (при их непереносимости – блокаторов рецепторов к ангиотензину), оказывающих положительное влияние на отдаленный прогноз.
4. Медикаментозная терапия артериальной гипертензии у реципиентов трансплантированного сердца хорошо переносится на фоне иммуносупрессивной терапии, не вызывает побочных реакций.
5. Применение комбинации ингибиторов ренин-ангиотензин-альдостероной системы и блокатора минералкортикоидных рецепторов спиронолактона в качестве дополнительной терапии реципиентов трансплантированного сердца является безопасным и позволяет улучшить выживаемость без нежелательных событий.
6. Применяемые в качестве дополнительной терапии препараты, влияющие на активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, и ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы хорошо переносятся реципиентами трансплантированного сердца на фоне иммуносупрессивной терапии, однако при их применении необходим динамический клинический и лабораторный контроль состояния реципиентов.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Попцов В.Н., Спирина Е.А., **Колоскова Н.Н.**, Масютин С.А., Ухренков С.Г., Догонашева А.А. Трансплантация сердца от доноров старших возрастных групп // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № 1. – С. 89–102.
2. **Колоскова Н.Н.**, Попцов В.Н., Салихова Г.М. Использование амиодарона у реципиентов в листе ожидания трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № 2. – С. 133–138.
3. Шевченко А.О., Никитина Е.А., Можейко Н.П., Тюняева И.Ю., **Колоскова Н.Н.** Распространенность и предикторы артериальной гипертензии у реципиентов сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № 3. – С. 33–39.
4. Халилулин Т.А., Захаревич В.М., Попцов В.Н., Иткин Г.П., Шевченко А.О., Саитгареев Р.Ш., Гольц А.М., Закирьянов А.Р., **Колоскова Н.Н.**, Абрамова Н.Н., Захаревич Н.Ю., Никитина Е.А., Данилина М.А., Готье С.В. Особенности имплантации системы поддержки насосной функции сердца АВК – Н в качестве «моста» к трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 13–22.

5. Готье С.В., МIRONKов А.Б., Саховский С.А., **Колоскова Н.Н.**, Муминов И.И., Спирина Е.А., Тюняева И.Ю., МIRONKов Б.Л. Оценка эффективности реваскуляризации миокарда у потенциальных реципиентов сердца с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 39–44.
6. **Колоскова Н.Н.**, Попцов В.Н., Шевченко А.О. Персонализированный подход к выбору иммуносупрессивной терапии при трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 127–137.
7. Попцов В.Н., Захаревич В.М., Спирина Е.А., Хатуцкий В.М., **Колоскова Н.Н.**, Тюняева И.Ю., Пчельников В.В., Устин С.Ю., Масютин С.А., Воронков В.Ю., Догонашева А.А., Алиев Э.З. Опыт трансплантации сердца от доноров с фракцией изгнания левого желудочка менее 40% // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 2. – С. 29–36.
8. **Колоскова Н.Н.**, Никитина Е.А., Захаревич В.М., Муминов И.И., Кван В.С., Попцов В.Н., Шевченко А.О., Ахмадзай Р.Л., Изотов Д.А. Конверсия на эверолимус с целью сохранения функции почек при трансплантации сердца, персонализированный подход при выборе иммуносупрессивной терапии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 3. – С. 70–74.
9. Шевченко А.О., Никитина Е.А., **Колоскова Н.Н.**, Шевченко О.П., Готье С.В. Контролируемая артериальная гипертензия и выживаемость без нежелательных событий реципиентов сердца // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2018. – Т. 17. – № 4. – С. 4–11.
10. Готье С.В., Попцов В.Н., **Колоскова Н.Н.**, Захаревич В.М., Шевченко А.О., Муминов И.И., Никитина Е.А., Кван В.С., Халилулин Т.А., Закирьянов А.Р., Гольц А.М. Лист ожидания трансплантации сердца ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» тенденции за период с 2010-го по 2017 год // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 8–13.
11. Шевченко А.О., Фараджов Р.А., Изотов Д.А., **Колоскова Н.Н.**, Никитина Е.А., Гичкун О.Е., Орлов В.И., Тюняева И.Ю., МIRONKов Б.Л. Ингибиторы ангиотензин превращающего фермента у реципиентов сердца: результаты одноцентрового исследования // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 14–21.
12. Саховский С.А., Изотов Д.А., **Колоскова Н.Н.**, Муминов И.И., Ахмадзай Р.Л., Фараджов Р.А., Спирина Е.А., Попцов В.Н., МIRONKов Б.Л., Шевченко А.О. Ангиографическая оценка атеросклеротического поражения коронарных артерий сердечного трансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 22–29.
13. **Колоскова Н.Н.**, Попцов В.Н., Захаревич В.М., Муминов И.И., Можейко Н.П., Гичкун О.Е., Никитина Е.А., Кван В.С., Халилулин Т.А., Закирьянов А.Р., Шевченко А.О. Гендерные аспекты развития кризов антителоопосредованного отторжения и васкулопатии трансплантата у реципиентов пересаженного сердца: опыт одного центра // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 1. – С. 17–22.

14. Саховский С.А., **Колоскова Н.Н.**, Гончарова А.Ю., МIRONKов Б.Л. Внутрисосудистые методы визуализации в оценке васкулопатии трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 1. – С. 165–168.
15. Готье С.В., Захаревич В.М., Халилулин Т.А., Шевченко А.О., Попцов В.Н., Ахмадзай Р.Л., Гольц А.М., Закирьянов А.Р., **Колоскова Н.Н.**, Захаревич Н.Ю., Никитина Е.А., Поздняков О.А., Кирьяков К.С. Трансплантация сердца как радикальный метод восстановления качества жизни у пациентов с терминальной стадией сердечной недостаточности // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 2. – С. 7–15.
16. Shevchenko A., Kwan V., Kachanova J., **Koloskova N.**, Gautier S. Spironolactone improves event-free survival in heart transplant recipients: single centre prospective study // Transplant International. – 2019. – Vol. 32, Suppl. № 2. – P. 35.
17. Саховский С.А., **Колоскова Н.Н.**, Изотов Д.А., Спирина Е.А., Гончарова А.Ю., Лучкин В.М., МIRONKов Б.Л. Оценка продолжительности жизни реципиентов с трансмиссивным поражением коронарных артерий // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 4. – С. 14–19.
18. Шевченко А.О., Качанова Ю.А., Кван В.С., **Колоскова Н.Н.**, Никитина Е.А., Готье С.В. Результаты проспективного когортного исследования влияния ингибиторов РААС на прогноз и ремоделирование миокарда у реципиентов сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. XXI (приложение). – С. 43.
19. 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 // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 5. – С. 28–32.
20. Готье С.В., Шевченко А.О., Цирульникова О.М., Хомяков С.М., Котенко О.Н., Виноградов В.Е., Абызов И.Н., Аветисян Г.Д., Анисимов А.Ю., Артюхина Л.Ю., Беков М.Т., Бердинский В.А., Богданов В.С., Быков А.Ю., Винокуров А.Ю., Гончарова А.Ю., Евдокимов Д.П., Езерский Д.В., Загайнов В.Е., Захаревич В.М., Зеленин К.Н., Иванова Е.С., Карташев А.А., Квадратова Н.Г., Ким И.Г., **Колоскова Н.Н.** и др. Особенности клинического течения коронавирусной инфекции COVID-19 у реципиентов сердца, почки, печени: первые результаты национального многоцентрового наблюдательного исследования «РОККОР-РЕЦИПИЕНТ» // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 9–17.
21. Шевченко А.О., Гончарова А.Ю., МIRONKов Б.Л., **Колоскова Н.Н.**, Саховский С.А. Наблюдательное исследование эффективности статинов как средств профилактики нежелательных событий и прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. XXII (Приложение). – С. 33.
22. Шевченко А.О., Гончарова А.Ю., МIRONKов Б.Л., **Колоскова Н.Н.**, Саховский С.А. Отдаленные результаты трансплантации сердца: влияние выра-

женности атеросклеротических изменений донорского сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. XXII (Приложение). – С. 32.

Список сокращений

ISHLT	– (англ., International Society for Heart and Lung Transplantation) Международное общество трансплантации сердца и легких
UNOS	– (англ., United Network for Organ Sharing) Объединенная сеть обмена органами
ИА	– индекс атерогенности
иАПФ	– блокаторы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы
ИМТ	– индекс массы тела
ЛПВП	– липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	– липопротеиды низкой плотности
ОТТС	– ортотопическая трансплантация сердца
ОХ	– общий холестерин
РААС	– ренин-ангиотензин-альдостероновая система
ТГ	– триглицериды
ТС	– трансплантация сердца
ФВ ЛЖ	– фракция выброса левого желудочка
ФК	– функциональный класс
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

Можейко Н.П., Ильинский И.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

В России первая успешная трансплантация сердца в клинике была выполнена в 1987 году (Шумаков В.И. с соавт., 1999). В 2012 году в нашем Центре был отмечен 25-летний юбилей со дня начала клинической пересадки (Казаков Э.Н. с соавт., 2012). В настоящее время Федеральное государственное бюджетное учреждение «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) является мировым лидером по количеству выполняемых пересадок сердца ежегодно в одном учреждении. Успешное развитие программы трансплантации сердца содействовало решению важной проблемы – обеспечению длительного выживания и улучшению качества жизни пациентов с трансплантированным сердцем (Готье С.В., 2014, 2019).

В нашем Центре накоплен большой опыт морфологического исследования собственных сердец реципиентов, патология которых может рекуррентно проявиться после трансплантации сердца (Белецкая Л.В. с соавт., 2009; Ильинский И.М. с соавт., 2014). На функцию трансплантата может влиять также патология донорского сердца, при пересадке его от доноров с расширенными критериями (Попцов В.Н. с соавт., 2016, 2019). Ее можно оценить на основании патоморфологического исследования эндомиокардиальных биопсий (ЭМБ), выполненного в ранние сроки после трансплантации сердца. Актуальность исследования материала ЭМБ в ранние сроки после операции относится не только к диагностике предсуществующей патологии, но может сочетаться и с ранними осложнениями. После операции пациент сталкивается с ишемическим и реперфузионным повреждением трансплантированного сердца (ТС), а также существует риск сверхострого и ускоренного отторжения. В поздние сроки после трансплантации у пациентов существует потенциальный риск развития

других осложнений. Нельзя исключить поздние кризы острого клеточного и/или антителоопосредованного отторжения (Можейко Н.П. с соавт., 2017). Кроме того, имеется риск побочных эффектов иммуносупрессии, а также прогрессирования ранее существовавших неблагоприятных событий (Potena L. et al., 2018). В настоящее время отмечено значительное улучшение выживаемости трансплантатов и пациентов в ранние сроки операции, но васкулопатия ТС остается «ахиллесовой пятой» трансплантации. Это осложнение лимитирует длительность функционирования ТС (Ludhwani D. et al., 2020). Несмотря на то, что ЭМБ по-прежнему остается «золотым стандартом» диагностики различных осложнений после пересадки сердца, нельзя не признать определенную ограниченность ее возможностей из-за малого объема исследуемого материала.

Таким образом, комплексное патоморфологическое исследование собственных сердец реципиентов, а также донорских и трансплантированных сердец является актуальной проблемой.

Цель исследования

Изучить патоморфологию собственного, донорского и пересаженного сердца, разработать алгоритм морфологической диагностики патологии трансплантата.

Задачи исследования

1. Провести патоморфологический анализ заболеваний, явившихся причиной развития терминальной стадии хронической сердечной недостаточности, при которых потребовалась трансплантация.
2. Изучить характер патоморфологических изменений в донорских сердцах на основании результатов исследования материала эндомикардиальных биопсий, выполненных в течение первых двух недель после трансплантации.
3. Проанализировать частоту встречаемости ишемического и реперфузионного повреждения трансплантированного сердца, различной степени тяжести.
4. Выявить частоту и степени острого клеточного отторжения в различные сроки после пересадки сердца.
5. Оценить эффективность диагностики антителоопосредованного отторжения по классификациям ISHLT-2011 и ISHLT-2013.
6. Изучить патоморфологию васкулопатии трансплантированного сердца.
7. На основании патоморфологического исследования удаленных трансплантатов сердца провести анализ причин развития его необратимой дисфункции.

8. Разработать алгоритм морфологического исследования патологии трансплантированного сердца в ранние и отдаленные сроки после операции.

Научная новизна

Впервые разработан комплексный подход к изучению патоморфологии трансплантированного сердца, включающий:

- исследование собственных сердец реципиентов;
- изучение патологии донорского сердца в эндомикардиальных биоптатах в ранний период (до двух недель) после операции;
- сравнительный анализ патоморфологии материала эндомикардиальных биопсий, выполненных в ранние и поздние сроки после трансплантации сердца;
- исследование удаленных трансплантированных сердец при ретрансплантации в связи с развившейся их необратимой дисфункцией.

Впервые на основании патоморфологического исследования собственных сердец реципиентов, проанализированы заболевания, приведшие к терминальной стадии хронической сердечной недостаточности, и установлено, что реципиенты, которым пересадили сердца, страдали не только дилатационной и ишемической кардиомиопатией, но и такими заболеваниями как хронический миокардит с исходом в кардиосклероз, ревматический кардиосклероз, некомпактный миокард левого желудочка, аритмогенная дисплазия правого желудочка сердца, перипартальная кардиомиопатия, аномалия Эбштейна и дистрофия Эмери–Дрейфуса.

Впервые на основании патоморфологических изменений в донорских сердцах при исследовании материала ранних эндомикардиальных биопсий установлены морфологические критерии предсуществующей патологии.

Впервые оценена эффективность последней классификации (ISHLT-2013) антителоопосредованного отторжения и изучена патоморфология васкулопатии трансплантированного сердца не только на материале эндомикардиальных биопсий, но и на основании патоморфологического исследования удаленных трансплантатов.

Впервые разработан алгоритм патоморфологической диагностики осложнений в ранние и поздние сроки после трансплантации сердца.

Практическая значимость

Результаты патоморфологического исследования собственного сердца реципиентов повышают теоретическую и практическую подготовку кардиологов при диагностике заболеваний у реципиентов до трансплантации сердца.

Патоморфологическое исследование показало, что пожилой возраст реципиентов, перенесенные операции на собственном сердце не являются ограничением при отборе пациентов на трансплантацию сердца. Даже наличие таких факторов, как механическая поддержка кровообращения, высокая легочная гипертензия, сахарный диабет и т. д. не препятствует успешной трансплантации сердца. Учет этих данных будет способствовать расширению возможности оказания трансплантологической помощи пациентам, страдающим терминальной стадией хронической сердечной недостаточности.

Предсуществующую патологию донорского сердца в клинике необходимо оценивать на основании результатов изучения биоптатов, полученных в ранние сроки после операции.

Кардиологам следует учитывать разработанный алгоритм выполнения эндомиокардиальных биопсий и неинвазивных методов диагностики острого отторжения, а также хронической васкулопатии трансплантированного сердца.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Анализ результатов патоморфологического исследования сердца потенциальных реципиентов, страдающих тяжелой сердечной недостаточностью, показал значительное расширение спектра заболеваний, при которых производят трансплантацию сердца.
2. Предсуществующая патология в донорском сердце диагностируется на основании патоморфологического изучения материала эндомиокардиальных биопсий, выполненных в течение первых двух недель после трансплантации сердца, что позволяет дифференцировать ее от вновь возникших патологических изменений, которые выявляются в более поздних биоптатах.
3. Ишемическое и реперфузионное повреждение трансплантированного сердца в зависимости от степени неодинаково влияет на функцию трансплантата: легкая степень – отсутствует нарушение; умеренная степень – страдает сократительная способность миокарда; тяжелая степень – может стать причиной первично нефункционирующего трансплантата.
4. Патоморфологическая диагностика острого клеточного отторжения, основанная на критериях классификации ISHLT-2004, показала, что оно наиболее часто развивается в первый год после пересадки сердца с преобладанием легкой степени, в более поздние сроки встречается редко и бывает умеренной степени.
5. Диагностика антителоопосредованного отторжения по классификации ISHLT-2013, учитывающая иммуногистохимические и гистологические признаки патологии, является более точной и полной,

по сравнению с классификацией ISHLT-2011, основанной только на фиксации в стенке капилляров миокарда C4d фрагмента комплекса.

6. Диагностика хронической васкулопатии трансплантированного сердца основана на исследовании интрамиокардиальных артерий при их наличии в эндомиокардиальных биоптатах, а ускоренного атеросклероза в субэпикардиальных и крупных интрамиокардиальных артериях доступна при коронарографии и патоморфологическом исследовании удаленных трансплантатов.
7. Патоморфологическое исследование удаленных трансплантатов сердца показало, что необратимая потеря их функции, потребовавшая ретрансплантации, была вызвана такими осложнениями, как тяжелое ишемическое и реперфузионное повреждение, сверхострое отторжение, хронический миокардит, острый инфаркт миокарда, тяжелое острое клеточное отторжение и хроническая васкулопатия.
8. Алгоритм патоморфологической диагностики осложнений трансплантированного сердца продемонстрировал последовательность выполнения эндомиокардиальных биопсий в ранние и отдаленные сроки после операции, возможность их замены не инвазивными методами, а также ситуации, при которых требуется ретрансплантация сердца.

Методология и методы исследования

Работа базируется на ретроспективном анализе патоморфологического исследования различных видов осложнений у 1103 пациентов после трансплантации сердца, оперированных в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в период с 2010-го по 2019 год. Проведено патоморфологическое исследование 1103 собственных сердец реципиентов, 4049 эндомиокардиальных биоптатов трансплантатов и 28 трансплантатов, удаленных при ретрансплантации сердца. В ходе выполнения исследования использованы морфологические методы, включающие макроскопическое исследование, световую и поляризационную микроскопию для гистологической оценки патологии, а также иммунофлюоресцентную и иммунопероксидазную микроскопию для иммуногистохимических исследований.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований – 1103 собственных сердец реципиентов, 4049 эндомиокардиальных биопсий трансплантированного сердца у 1103 реципиентов и 28 удаленных трансплантатов сердца при ретрансплантации. Исследова-

ние проведено с использованием современных методов исследования на лицензированном оборудовании, корректных методов статистической обработки данных и критической оценкой полученных результатов.

Апробация работы состоялась 12 июня 2020 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 и кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Материалы и основные положения работы доложены и обсуждены на: II Российском конгрессе по патофизиологии (Москва, 9–12 октября 2000 г.); XVIII съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Казань, 2001 г.); V съезде трансплантологов (8–10 октября 2010 г.); VI всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 24–27 сентября 2012 г.); VI Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 28–30 мая 2014 г.); VIII Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 27–29 июня 2016 г.); III российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2–4 октября 2017 г.); IX Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 17–19 сентября 2018 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются в процессе лечения больных после трансплантации сердца в кардиологическом отделении, кардиохирургических отделениях № 1, 2, 3 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, в образовательном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), в лечебно-диагностическом процессе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница № 1», г. Екатеринбург.

Материал и методы исследования

Характеристика собственных сердец реципиентов

Исследовали 1103 собственных сердца реципиентов, удаленных при трансплантации (2010–2019 годы). Возраст пациентов колебался от 9 до 73 лет, в среднем составил 46,9 года. Среди них преобладали лица мужского пола, а количество лиц женского пола было гораздо меньше ($n = 146$; 13,2%).

Характеристика эндомикардиальных биопсий трансплантированного сердца

Биопсию выполняли с помощью специального биоптома под рентгеновским контролем. Доступ осуществляли через правую внутреннюю яремную вену. Образцы миокарда с прилежащим эндокардом брали из межжелудочковой перегородки со стороны полости правого желудочка в количестве не менее шести кусочков. Для гистологического исследования адекватным считается наличие не менее трех-четырех кусочков эндомикарда, а для иммуноморфологического исследования – двух образцов. Всего было проведено исследование материала 4049 ЭМБ, выполненных у больных в ранние и поздние сроки после трансплантации сердца. Большее количество биопсий относится к ранним срокам после операции – 2423 (59,8%). В сроки свыше одного года было выполнено 1626 (40,2%) ЭМБ.

Характеристика удаленных трансплантатов при ретрансплантации сердца

В период с 2010-го по 2019 год исследованы удаленные трансплантаты 28 пациентов, из них 22 мужчины и 6 женщин. Возраст лиц мужского пола колебался от 20 до 66 лет, в среднем составил 45,2 года. Ретрансплантация сердца потребовалась в сроки до одной недели после первой пересадки сердца 31, 8% мужчин, а в сроки, превышающие один год, в среднем через три года после первой операции (диапазон: 1 год – 6 лет). Возраст женщин варьировал от 25 до 64 лет, в среднем составил 41,5 года. Повторная пересадка сердца через сутки потребовалась только одной (16,7%) пациентке, в сроки от двух до 14 лет (в среднем через 6,4 года) ретрансплантация выполнена остальным пяти женщинам.

Гистологические методы исследования

Для гистологического исследования биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение одного часа, обезживали в спиртах

возрастающей крепости и заливали в парафин с помощью диспенсера с нагревающей и охлаждающей платами.

Из парафиновых блоков на микротоме Leica RM 2145 приготавливали гистологические срезы толщиной 4–5 мкм. Перед окраской проводили депарафинацию срезов по 10–15 минут в двух порциях чистого ксилола, с последующим удалением его в трех порциях спирта нисходящей крепости (абсолютный – 70°) до дистиллированной воды.

Гистологические срезы окрашивали по стандартным методикам: гематоксилином и эозином, трихромом по Массону, а также проводили PAS-реакцию. Препараты изучали в светлом поле, а также в поляризованном свете микроскопа Leica DM 6000B.

Классификация острого клеточного отторжения по классификации Международного общества трансплантации сердца и легких (The International Society for Heart and Lung Transplantation, 2004)

Диагностику острого клеточного отторжения осуществляли на основании последней действующей классификации, рекомендованной Международным обществом трансплантации сердца и легких (The International Society for Heart and Lung Transplantation – ISHLT, 2004) (Stewart S. et al., 2005). При остром клеточном отторжении степени G0R в биоптатах отсутствуют признаки воспаления и повреждения кардиомиоцитов. При гистологическом исследовании эндомикардиальных биоптатов в случае наличия легкой степени (G1R) присутствует очаговая или диффузная интерстициальная инфильтрация лимфоидными клетками без повреждения кардиомиоцитов, либо может быть их повреждение *при наличии только одного очага* агрессивной инфильтрации лимфоцитами. Умеренная степень острого клеточного отторжения (G2R) характеризуется повреждением кардиомиоцитов множественными инфильтратами, в которых присутствуют агрессивные лимфоциты. Уже при этой степени могут быть эозинофильные лейкоциты, наличие которых свидетельствует о гиперэргической реакции иммунной системы. При тяжелой степени острого клеточного отторжения (G3R) в нескольких или во всех образцах биоптата, в отличие от умеренной степени, имеется диффузная инфильтрация лимфоцитами, среди которых присутствует заметное количество нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов. Агрессивная воспалительная инфильтрация вызывает различные степени дистрофии и некроза кардиомиоцитов, а также отек и микрогеморрагии в интерстиции миокарда ТС.

Иммуногистохимические методы исследования

Для иммуногистохимического исследования использовали иммунофлюоресцентный и иммунопероксидазный методы.

Для иммунофлюоресцентного метода биоптаты помещали в среду Tissue-Tek (Miles) и замораживали в жидком азоте. Затем в криостате Leica CM 1850 приготавливали из нефиксированных кусочков гистологические срезы толщиной 4–5 мкм, которые переносили на предметные стекла, обработанные 0,1% раствором Poly-L-Lysine. Немедленно наносили соответствующие антитела, меченные изотиоцианатом флюоресцеина (FITC) на срок в соответствии с рекомендациями фирмы изготовителя. Затем трижды промывали фосфатным буфером с pH 7,6. Следующий этап – заключение срезов в среду, состоящую из 60% глицерина. Прямым методом выявляли IgG, IgM, C3c компонент комплемента и фибрин.

При выявлении C4d компонента комплемента и HLA-Dг использовали непрямой метод. На первом этапе обрабатывали срезы моноклональными антителами, на втором этапе наносили антитела с FITC к мышиному иммуноглобулину (DAKO, Denmark). Препараты изучали и документировали с применением люминесцентного микроскопа Leica DM 4000B.

Для иммунопероксидазного метода использовали гистологические срезы из парафиновых блоков, приготовленных для гистологического исследования. Перед обработкой препаратов антителами для блокады эндогенной пероксидазной активности проводили инкубацию срезов в 1% растворе перекиси водорода в течение 10 минут, с последующим промыванием в дистиллированной воде в течение 5 минут.

После инкубации с первичными моноклональными антителами и промывки фосфатным буфером с pH 7,6 срезы последовательно обрабатывали биотинилированными вторичными антителами и раствором хромогена – 3,3' диаминобензидина (DAB) 2–3 минуты, который с пероксидазой хрена дает продукт, окрашенный в коричневый цвет. Этим методом с использованием моноклональных антител выявляли В-лимфоциты (CD19, CD20), Т-лимфоциты (CD3), натуральные киллеры (CD57), макрофаги (CD68) и лимфатические сосуды (D2-40).

Классификация антителоопосредованного отторжения по классификации Международного общества трансплантации сердца и легких (The International Society for Heart and Lung Transplantation, 2013)

Диагностику антителоопосредованного отторжения проводили в соответствии с классификацией ISHLT-2013 (Hammond M.E. et al., 2016), в которой учитывают не только наличие фиксации C4d компонента комплемента в стенке капилляров миокарда, но и гистологические признаки. Выделяют 5 степеней антителоопосредованного отторжения. При его отсутствии (pAMR0) не выявляются не только иммуногистохимические, но и гистологические признаки.

Степень pAMR1 (H+) – отсутствуют иммуногистохимические, но имеются такие гистологические признаки, как активация эндотелиальных клеток кровеносных сосудов (отек с увеличением их размеров и уменьшением сечения просвета сосудов), а также присутствуют признаки воспаления (периваскулярные мононуклеарные инфильтраты и внутрисосудистые макрофаги). Эти признаки сочетаются с интерстициальным отеком, также возможен некроз кардиомиоцитов.

Степень pAMR1 (I+) – отсутствуют гистологические, но имеется только иммуногистохимический признак – фиксация C4d компонента комплемента в стенке до 100% кровеносных капилляров миокарда.

При степени pAMR2 имеет место как свечение C4d компонента комплемента в стенке до 80% кровеносных капилляров миокарда, так и некоторые гистологические признаки.

Степень pAMR3 – характеризуется сочетанием выраженных гистологических признаков и распространенное свечение C4d компонента комплемента в стенке от 80 до 100% кровеносных капилляров миокарда.

Статистические методы анализа результатов исследования

Анализ полученных данных производили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$) для параметрических и как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. При анализе количественных данных использовали U-критерий Манна–Уитни, а качественных признаков – критерий χ^2 . Для всех критериев критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Патоморфология собственного сердца реципиентов

В патологоанатомическом отделении нашего Центра за период с 2010-го по 2019 год нами было исследовано 1103 собственных сердца реципиентов, удаленных при трансплантации. Заболевания, которые привели к терминальной стадии хронической сердечной недостаточности и послужили причиной трансплантации сердца, представлены в табл. 1.

В ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в листе ожидания трансплантации сердца основным контингентом являются пациенты, у которых застойная сердечная недостаточность развилась вследствие идиопатической дилатационной кардиомиопатии или ишемической болезни сердца. Нами была проведена дифференциация идиопатической дилатационной кардиомиопатии ($n = 573$; 51,9%) и вторичной

Таблица 1

**Заболевания, послужившие причиной трансплантации сердца
в период с 2010-го по 2019 год**

Заболевания собственного сердца реципиентов	Количество	
	п	п
Идиопатическая дилатационная кардиомиопатия	573	51,9
Вторичная дилатационная кардиомиопатия	101	9,2
Гипертрофическая кардиомиопатия	9	0,8
Ишемическая болезнь сердца	390	35,4
Хронический миокардит	9	0,8
Ревматический кардиосклероз	5	0,5
Некомпактный миокард левого желудочка	6	0,5
Аритмогенная дисплазия правого желудочка	5	0,5
Перипартальная кардиомиопатия	3	0,3
Аномалия Эбштейна	1	0,1
Дистрофия Эмери–Дрейфуса	1	0,1
Всего	1103	100

дилатационной кардиомиопатии, развившейся в исходе перенесенного миокардита (n = 101; 9,2%).

По нашим данным идиопатическая дилатационная кардиомиопатия гистологически характеризуется полиморфизмом кардиомиоцитов: встречаются атрофичные, нормотрофные и гипертрофированные клетки. В гипертрофированных кардиомиоцитах ядра уродливой, паукообразной формы с перинуклеарным отеком. Следует подчеркнуть, что при этом заболевании имеет место только легкая степень диффузного склероза миокарда.

При вторичной дилатационной кардиомиопатии в исходе миокардита мы обнаруживали выраженный диффузный, местами очаговый склероз интерстиция при том, что коронарные артерии были интактными. В участках склероза отмечали наличие остаточной воспалительной инфильтрации.

Ишемическая болезнь сердца была диагностирована у 390 (35,4%) пациентов. В эту группу включены: ишемическая кардиомиопатия, крупноочаговый постинфарктный кардиосклероз, хроническая аневризма сердца.

В настоящее время имеется тенденция к расширению списка нозологических форм заболеваний сердца, требующих трансплантации. Среди других заболеваний, вызвавших необходимость в операции были такие, хронический миокардит с исходом в кардиосклероз (n = 9; 0,8%), ревматический кардиосклероз (n = 5; 0,5%), некомпактный миокард левого

желудочка ($n = 6$; 0,5%), аритмогенная дисплазия правого желудочка сердца ($n = 5$; 0,5%), перипартальная кардиомиопатия ($n = 3$; 0,3%) и такие редкие заболевания, как аномалия Эбштейна ($n = 1$; 0,1%) и дистрофия Эмери–Дрейфуса ($n = 1$; 0,1%).

После перенесенного миокардита не всегда бывает дилатация полостей сердца (вторичная дилатационная кардиомиопатия), а воспалительный процесс заканчивается кардиосклерозом. При перипартальной кардиомиопатии микроскопически была дистрофия гипертрофированных кардиомиоцитов, их ядра имели уродливую форму как и при идиопатической дилатационной кардиомиопатии. В интерстиции присутствовала воспалительная лимфоидноклеточная инфильтрация (рис. 1).

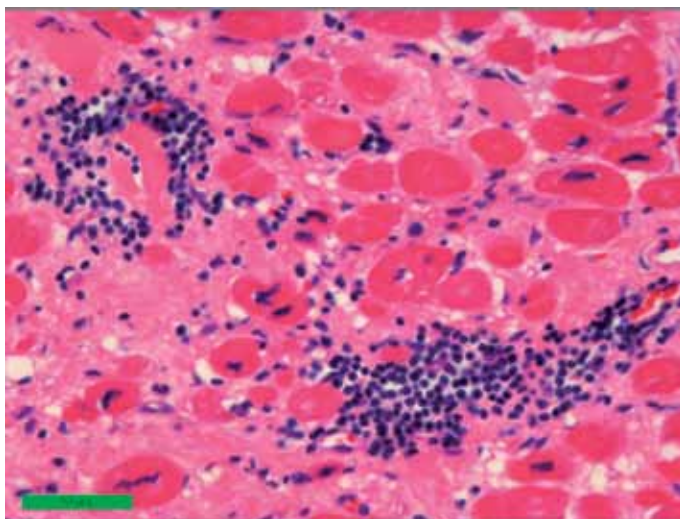
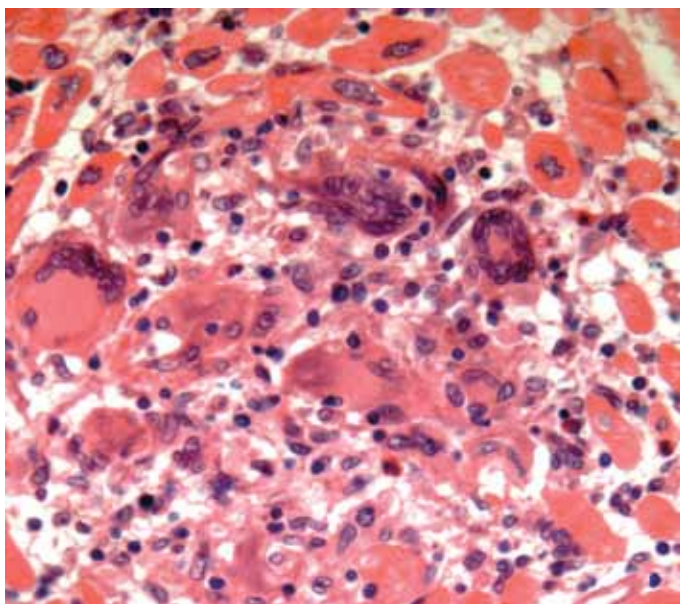


Рис. 1. Гистологическая картина послеродовой кардиомиопатии. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

Диагностика гипертрофической кардиомиопатии основывается на макроскопическом исследовании по значительному увеличению толщины миокарда левого желудочка. Гипертрофия может быть асимметричной и симметричной. В нашем исследовании мы наблюдали симметричную гипертрофическую кардиомиопатию со значительным снижением выброса крови из левого желудочка. Гистологическая картина при этой кардиомиопатии сходна с таковой при дилатационной кардиомиопатии. При общем увеличении мышечной массы стенки левого желудочка микроскопически мы выявили, что часть ее представляет собой соединительную ткань, топография которой относится не только к интерстицию, но и к периваскулярным зонам. Размеры кардиомиоцитов различаются и

представляют собой атрофичные, нормотрофные и гипертрофированные клетки.

Гигантоклеточный миокардит был диагностирован у троих пациентов. В качестве примера приводим описание гистологической картины этой патологии у мужчины 19 лет, у которого клинический диагноз трактовался как дилатационная кардиомиопатия. В миокарде выявлена выраженная дистрофия и гипертрофия кардиомиоцитов. Во многих миоцитах перинуклеарный отек и уродливые ядра с глыбчатым распадом хроматина. Неравномерно выраженное диффузно-очаговое замещение кардиомиоцитов фиброзной тканью. В интерстиции – незначительная лимфоидноклеточная инфильтрация, среди которой обнаружены множественные гигантские многоядерные клетки с маргинально расположенными ядрами в виде кольца или полулуния (рис. 2).



**Рис. 2. Гигантоклеточный миокардит.
Окраска гематоксилином и эозином. ×400**

Необходимость в трансплантации сердца реципиентам с некомпактным миокардом левого желудочка возникает редко и определяется тяжелой застойной сердечной недостаточностью, рефрактерной к консервативной терапии. Результаты нашего морфологического исследования показали, что толщина компактного слоя миокарда левого желудочка сердца во много раз меньше толщины губчатого слоя у всех реципиентов с этой патологией. В компактном слое миокарда левого желудочка отмечены выраженная дистрофия, хаотичное и беспорядочное расположение

кардиомиоцитов, а также диффузно-очаговый склероз интерстиция с дегенерацией коллагена. Губчатый слой представлен был множественными трабекулами с широкими межтрабекулярными промежутками. Просветы коронарных артерий широкие, без стенозов.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что в последние годы трансплантацию сердца выполняют не только при идиопатической или вторичной дилатационной кардиомиопатии, а также ишемической болезни сердца, но и при других редких заболеваниях, ведущих к терминальной стадии застойной сердечной недостаточности. Редкие нозологии создают определенные трудности при клинической диагностике. Поэтому приведенные нами наблюдения помогут трансплантологам при диагностике редких заболеваний у пациентов, находящихся в листе ожидания на пересадку сердца.

Патоморфология эндомикардиальных биоптатов при ранней дисфункции трансплантированного сердца

Предсуществующая патология донорского сердца

В связи с отсутствием биопсий донорского сердца предсуществующую патологию мы диагностировали на основании результатов патоморфологического изучения материала первых ЭМБ, которые были выполнены, в конце первой недели после операции, или несколько позднее после трансплантации сердца. Такие признаки, как склероз и липоматоз миокарда, а также гиалиноз стенки мелких артерий и артериол в эти сроки относятся к патологии донорского сердца и могут приводить к нарушению функции трансплантата. Результаты патоморфологического исследования ранних биоптатов мы использовали для сравнения с изменениями в биоптатах, выполненных в более поздние сроки, для выявления этих признаков, развившихся *de novo*.

В первые годы, включенные в наше исследование, выполняли небольшое количество пересадок сердца, так как для операции использовали оптимальных доноров. В последние годы количество трансплантаций резко возросло в связи с использованием доноров с расширенными критериями. Это относится также и к достоверному увеличению частоты предсуществующей патологии, особенно склероза миокарда и гиалиноза стенки мелких артерий и артериол. Из общего количества ЭМБ ($n = 114$), выполненных за три года (2010–2012) склероз миокарда был выявлен в 11 (9,6%) биоптатах, а в 2019 году – в 97 (45,5%) биоптатах. Липоматоз миокарда обнаружен, соответственно, в 11 (9,6%) и 44 (20,7%) биоптатах. Гиалиноз стенки мелких артерий и артериол встречался, соответственно, в 9 (7,9%) и в 98 (46,0%). Различия частоты всех признаков предсуществующей патологии в донорских сердцах статистически достоверны ($p < 0,05$).

Ишемическое и реперфузионное повреждение

Патоморфологические признаки ишемического и реперфузионного повреждения трансплантированного сердца в материале ЭМБ мы наблюдали в течение первого месяца после операции. Они развиваются в результате многоэтапного процесса. Первый этап ишемия ТС возникает еще при жизни донора, когда в отделении реанимации случаются эпизоды нестабильной гемодинамики. Затем, повреждение усиливается на первом этапе тепловой ишемии, продолжающегося до отмывки донорского сердца охлажденным консервирующим раствором. После этого наступает этап холодовой консервации. Период после извлечения донорского сердца из охлажденного консервирующего раствора и до включения органа в кровотоки реципиента представляет собой вторичную тепловую ишемию. Чем сильнее были ишемическое повреждение донорского сердца, тем тяжелее будет реперфузионное повреждение ТС.

В биопсиях, выполненных не позднее первого месяца после трансплантации сердца ($n = 1852$), мы выделили три степени ИРП: легкую, умеренную и тяжелую. Легкая степень существенно не влияла на функцию трансплантата ($n = 1190$; 64,3%), умеренная степень ($n = 618$; 33,4%) характеризовалась нарушением сократительной функции миокарда, что требовало соответствующей терапии; тяжелая степень ($n = 44$; 2,4%) вызывала выраженное нарушение сократительной способности миокарда, а у части больных привело к необратимой потере функции трансплантата, несмотря на интенсивное лечение.

Мы сравнили частоту различных степеней ИРП в первые три года исследованного нами материала с аналогичными данными за 2019 год. В период 2010–2012 гг. по сравнению с 2019 годом умеренная и тяжелая степени ИРП встречались статистически достоверно чаще ($p < 0,05$).

Наш опыт говорит о том, что легкая степень ИРП всегда имеет место в материале ранних ЭМБ. Она проявляется незначительными, по большей части очаговыми, а не диффузными, дистрофическими изменениями кардиомиоцитов и отеком интерстиция. В микрососудистом русле миокарда можно наблюдать десквамацию эндотелиальных клеток. При легкой степени ИРП дисфункция ТС или отсутствует, или проявляется в незначительной степени.

В норме лимфатические сосуды в миокарде не визуализируются. Как известно, после операции нарушается связь между отводящими лимфатическими сосудами донорского сердца и лимфатическими сосудами реципиента. По нашему мнению, это не вызывает драматического отека, так как известно существование лимфовенозных анастомозов. Тем не менее, нарушение микрогемоциркуляции в первый месяц после трансплантации сердца сочетается с нарушением лимфооттока от миокарда и эктазией лимфатических сосудов. При обычной гистологической окраске

чрезвычайно трудно отличить их от вен. Поэтому применяется специальный маркер D2-40. На рис. 3 видны окрашенные в коричневый цвет лимфатические сосуды, а вена, по своей структуре имеющая сходное строение, с отрицательной реакцией.

При умеренной степени ИРП отмечается диффузно-очаговая умеренная белковая дистрофия кардиомиоцитов, диффузно-очаговый отек интерстиция, набухание эндотелиальных клеток в сосудах микроциркуляторного русла, местами их десквамация в просвет с эмболией просветов микрососудов. При этой степени в связи с более тяжелым повреждением миокарда появляются признаки воспаления, в частности встречаются единичные васкулиты. Функция ТС снижена.

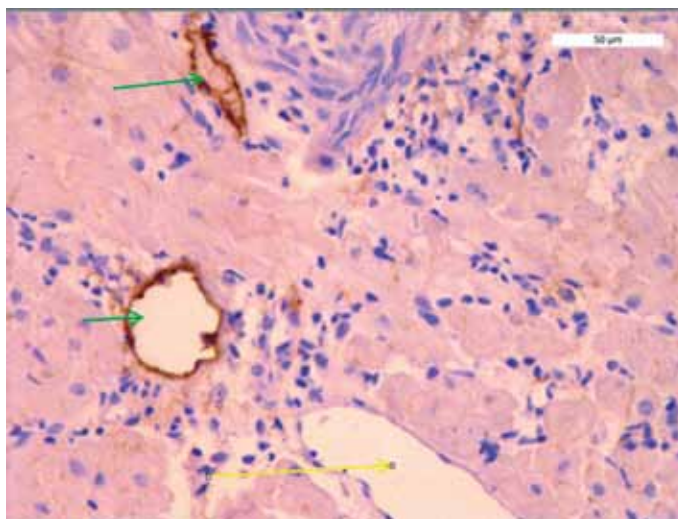


Рис. 3. Легкая степень ишемического и реперфузионного повреждения: эктазированные лимфатические сосуды (указано зелеными стрелками) и вена (указана желтой стрелкой). Иммунопероксидазный метод, окраска маркером D2-40. $\times 400$

При тяжелой степени ИРП в миокарде мы наблюдали не только дистрофию кардиомиоцитов и их некроз. В ответ на тяжелое повреждение миокарда мы отмечали значительную воспалительную реакцию: инфильтрацию нейтрофильными лейкоцитами миокарда, более выраженную в зонах некроза, а также тотальные васкулиты. В некоторых артериях были свежие тромбы. У пяти пациентов (0,7%) среди наших наблюдений ИРП стало причиной первично-нефункционирующего трансплантата, что потребовало проведения ретрансплантации сердца.

Таким образом, наше исследование показало, что предсуществующая патология достоверно чаще стала выявляться в 2019 году по сравнению с

2010–2012 годами. Это объясняется широким использованием для трансплантации сердца доноров с расширенными критериями. Можно было предполагать, что и ИРП будут чаще в более поздние сроки. Однако анализ нашего материала показал снижение частоты умеренной и тяжелой степени ИРП в последние годы. Это объясняется повышением качества кондиционирования доноров, улучшением консервации донорского сердца и совершенствованием техники оперативного вмешательства.

Патоморфология острого отторжения в эндомикардиальных биоптатах трансплантированного сердца

Острое клеточное отторжение в сроки до одного года после трансплантации сердца

В этот период было выполнено 2423 (59,8%) из общего количества – 4049 ЭМБ. Острое клеточное отторжение было выявлено в материале 686 (28,3%) из 2423 ЭМБ (табл. 2). Легкую степень острого клеточного отторжения (R1G) наблюдали в материале 645 (26,6%) ЭМБ. Умеренная степень (R2G) статистически достоверно ($p < 0,05$) встречалось значительно реже ($n = 36$; 1,5%), а тяжелая степень (R3G) только в нескольких наблюдениях ($n = 5$; 0,2%).

Таблица 2

Количество эндомикардиальных биопсий при различной степени острого клеточного отторжения

Степень острого клеточного отторжения	Количество эндомикардиальных биопсий	
	n	%
R0G	1737	71,7
R1G	645	26,6
R2G	36	1,5
R3G	5	0,2
Всего	2423	100

В тех наблюдениях, в которых отсутствовало острое клеточное отторжение, миокард был без воспалительных изменений, но в ранних биоптатах имелись признаки предсуществующей патологии донорского сердца и ИРП, описанные выше. При отсутствии острого клеточного отторжения в эндокарде может быть незначительная инфильтрация лимфоидными клетками.

По современной классификации выделяют только три степени острого клеточного отторжения. Однако, придерживаясь этой классификации, мы при легкой степени отторжения обращали внимание на характер воспалительной инфильтрации, как это было принято в классификации

ISHLT-1990. При легком очаговом остром отторжении в интерстиции отмечали один или несколько воспалительных инфильтратов без повреждения кардиомиоцитов (рис. 4).

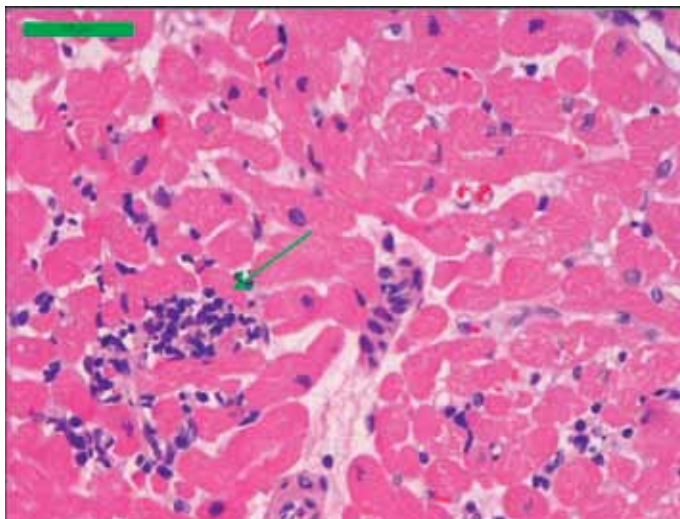


Рис. 4. Острое клеточное отторжение (R1G-очаговое легкое острое отторжение): в интерстиции один интерстициальный инфильтрат, повреждение кардиомиоцитов отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

При легком диффузном отторжении в одном, а иногда и большем числе образцов, в интерстиции выявляли периваскулярную и выраженную диффузную воспалительную инфильтрацию лимфоцитами без повреждения кардиомиоцитов (рис. 5). Отмечался отек субэндокарда и интерстиция. Диагностика легкого острого отторжения должна настораживать клиницистов в плане возможного дальнейшего прогрессирования острого отторжения, поэтому с этой целью целесообразно выполнение ребиопсии спустя 4–5 суток. При легкой степени острого клеточного отторжения в воспалительных инфильтратах только часть лимфоцитов представляет собой Т-лимфоциты, а кроме того имеется небольшое количество натуральных киллеров.

Третий вариант легкого острого отторжения характеризуется наличием в одном образце ЭМБ крупного, четко ограниченного очага воспалительного инфильтрата, состоящего из агрессивных лимфоцитов иногда с примесью единичных эозинофилов. В этом очаге происходит некроз и лизис кардиомиоцитов.

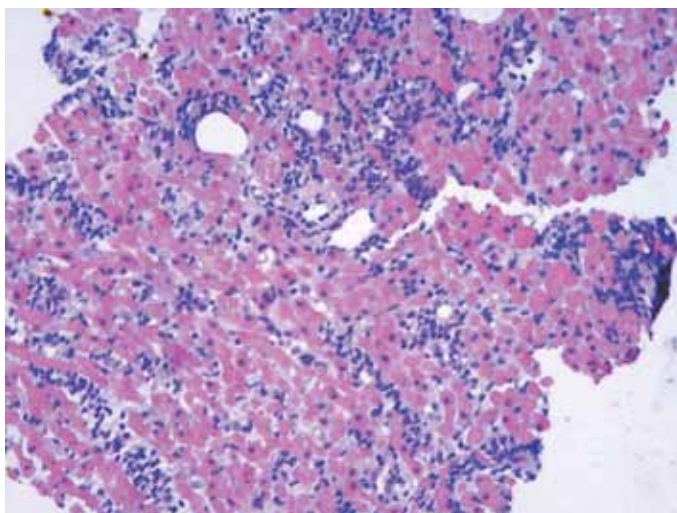


Рис. 5. Острое клеточное отторжение (R1G-диффузное легкое острое отторжение): периваскулярная воспалительная инфильтрация и диффузная инфильтрация интерстиции лимфоцитами без повреждения кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Присутствие в воспалительных инфильтратах значительного количества эозинофильных лейкоцитов, свидетельствует о сенсибилизации и требует коррекции иммуносупрессивной терапии в сторону ее увеличения.

Даже при легкой степени острого отторжения мы наблюдали патологические изменения в микроциркуляторном русле. Происходит активация эндотелиальных клеток, и они становятся по внешнему виду похожими на эпителиоциты. Пери- и интраваскулярно отмечали наличие незначительной воспалительной инфильтрации, но встречались и выраженные васкулиты с повреждением эндотелия лимфоидными клетками и периваскулярной инфильтрацией.

При легкой степени острого клеточного отторжения мы наблюдали и острые флебиты, при которых была частичная отслойка и потеря эндотелиальной выстилки, а местами – инфильтрация лимфоидными клетками.

При умеренном остром клеточном отторжении (R2G) в биоптатах отмечали многоочаговое воспаление миокарда ТС, состоящее из лимфоцитов с примесью эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов с повреждением кардиомиоцитов (рис. 6). Наблюдали отек интерстиция, острые васкулиты. При этой степени острого отторжения лечение обязательно. Оно включает проведение пульс-терапии глюкокортикостероидами. После лечения умеренного отторжения может сохраняться легкая степень патологии, при которой кроме воспалительной инфильтрации имеется вы-

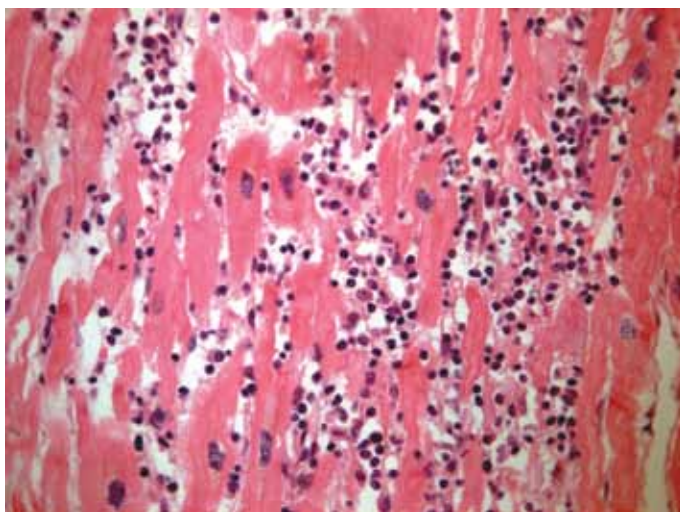


Рис. 6. Острое клеточное отторжение (R2G-многоочаговое отторжение): в отечном интерстиции воспалительная инфильтрация агрессивными лимфоцитами с повреждением кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

раженная дистрофия кардиомиоцитов. Мы рассматриваем это как не до конца вылеченный криз и требуется дополнительная терапия. При остром отторжении ТС, наряду с непосредственным повреждением кардиомиоцитов клетками воспалительного инфильтрата и гуморальными факторами, развиваются острые артерииты. Инфильтрация внутренней оболочки артерий лимфоидными клетками вызывает отек интимы и пролиферацию эндотелиальных клеток, что ведет к уменьшению сечения просвета сосудов и ишемии миокарда, степень и распространенность которых коррелирует со степенью острого отторжения. Наблюдали отек интерстиция, острые васкулиты.

При этой степени острого отторжения лечение обязательно. При тяжелом остром клеточном отторжении (R3G) имеет место диффузная, выраженная воспалительная инфильтрация интерстиция агрессивными лимфоцитами, среди которых также видны нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты, макрофаги, а также плазматические клетки. Воспаление настолько агрессивно, что это вызывает очаговый некроз миокарда и микрогеморагии.

При сочетании ИРП с острым клеточным отторжением мы отмечали дистрофию кардиомиоцитов различной степени выраженности и отек интерстиция с лимфоидноклеточной инфильтрацией. Наряду с этим в гистологических препаратах визуализировали активацию эндотелия в сосудах микроциркуляторного русла и признаки васкулитов. В одном из таких на-

блюдений, в материале ЭМБ был обнаружен тромб в стадии организации в артерии мышечного типа. Эта находка, судя по ранним срокам (одна неделя) после операции, относится к предсуществующей патологии донорского сердца.

Эффект Quilty. В 497 (12,4%) из 4011 ЭМБ был выявлен эффект Quilty. По локализации воспаления этот феномен подразделяется на эффект Quilty типа «А», при котором инфильтрация лимфоидными клетками ограничивается только эндокардом и эффект Quilty типа «В» – инфильтрация с эндокарда распространяется на прилегающие участки миокарда с некрозом и лизисом кардиомиоцитов. Воспалительная инфильтрация представлена цитотоксическими Т-лимфоцитами и натуральными киллерами, а также макрофагами, В-лимфоциты содержатся в небольшом количестве. Эффект Quilty редко встречался при отсутствии острого клеточного отторжения и отсутствовал при остром антителоопосредованном отторжении. В большинстве наблюдений эффект Quilty был при остром клеточном отторжении. Его частота увеличивалась по мере возрастания срока после трансплантации сердца.

Поздние кризы острого отторжения

Риск развития острого клеточного отторжения ТС наибольший в первые три месяца после операции, позднее, до года, частота этого осложнения несколько снижается, но остается достаточно высоким. Через год после пересадки сердца острое клеточное отторжение встречается редко, в 2,9% ЭМБ.

Мы не относили к поздним кризам острого клеточного отторжения те наблюдения, в которых было легкое очаговое воспаление, соответствующее степени R1G, не требующее проведения пульс-терапии. Такие наблюдения, как и при ранних кризах, были отнесены к норме, которая включала 1626 (40,2%) биоптатов. Острое клеточное отторжение, требующее проведения коррекции иммуносупрессивного режима, либо проведения пульс-гормональной терапии R1G, выявлено в 41 (2,5%) биоптате, а степень R2G – в восьми (0,5%) биоптатах. Тяжелая степень острого клеточного отторжения (R3G) в поздние сроки после трансплантации отсутствовала, что по нашему мнению, связано как с приобретением частичной толерантности трансплантата, так и с тактикой коррекции иммуносупрессивной терапии уже при R1G, если имеет место не легкое очаговое, а легкое диффузное воспаление миокарда. Мы полагаем, что несмотря на относительную редкость поздних кризов острого клеточного отторжения, следует ежегодно выполнять ЭМБ даже при удовлетворительной функции ТС.

Антителоопосредованное отторжение в ранние сроки после трансплантации сердца (до одного года)

Специфическим маркером антителоопосредованного отторжения является выявление фиксации C4d компонента комплемента в стенке капилляров миокарда (рис. 7). За период с 2015-го по 2019 год нами исследовано 3048 биоптатов, из них фиксация C4d компонента комплемента в стенке капилляров миокарда ТС была обнаружена в 226 (7,4%) ЭМБ.

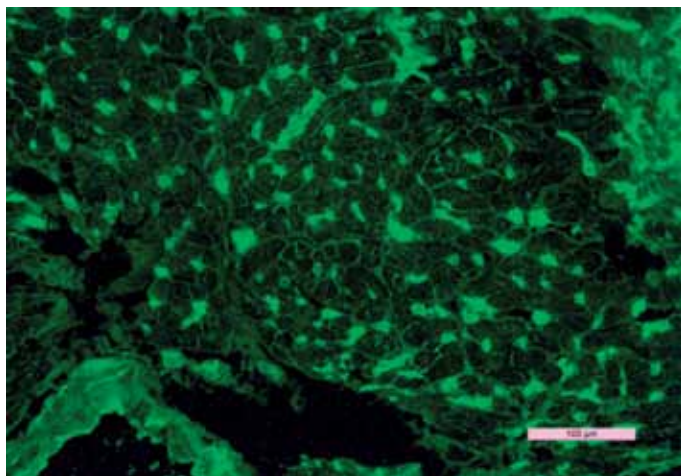


Рис. 7. Острое антителоопосредованное отторжение: фиксация C4d-фрагмента комплемента в стенке капилляров миокарда. Иммунофлуоресцентный метод с моноклональными антителами против C4d-фрагмента комплемента. ×400

Оценка антителоопосредованного отторжения по этому маркеру ведет к гиподиагностике. Поэтому в классификации ISHLT-2013 было предложено учитывать не только иммуногистохимические, но и гистологические признаки этой патологии. По этой классификации за указанный выше период (2015–2019 годы) количество наблюдений с антителоопосредованным отторжением составило 39,8%. Наиболее частым гистологическим признаком наличия антителоопосредованного отторжения была активация эндотелия. В просвете сосудов с активированным эндотелием отмечали скопление мононуклеарных клеток. Наряду с этим, в препаратах были острые васкулиты, которые также относятся к гистологическим признакам rAMR (рис. 8). В связи с нарушением микроциркуляции имел место отек интерстиция, дистрофия и некроз кардиомиоцитов.

Таким образом, современное лечение больных после трансплантации сердца, а также своевременная диагностика острого клеточного отторжения, снизили частоту выявления этого осложнения до 28,3%. Кроме того,

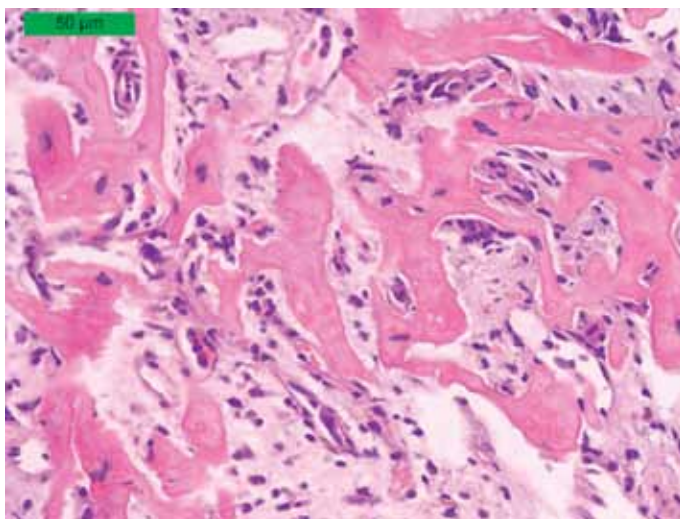


Рис. 8. Гистологические признаки антителоопосредованного отторжения по ISHLT-2013: острые васкулиты в миокарде. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

в ранний период после операции отсутствовали тяжелые кризы острого отторжения (R3G), а количество умеренных (R2G) – было небольшим. Тем не менее, риск возникновения этого осложнения сохраняется, особенно в ранний послеоперационный период. Не исключены кризы острого клеточного отторжения в весьма отдаленный период после операции с возможным неблагоприятным исходом. Частота диагностики антителоопосредованного отторжения по классификации ISHLT-2013 значительно возросла (39,8%) за счет учета гистологических признаков, а диагностика, основанная только на фиксации C4d компонента комплемента [pAMR 1(I+)] осталось на уровне 7,4%.

Патоморфология васкулопатии трансплантированного сердца

Хроническая васкулопатия поражает все отделы коронарных артерий ТС. В субэпикардальных и крупных интрамиокардиальных ветвях эта патология является катализатором ускоренного развития атеросклероза. Хроническая васкулопатия мелких ветвей представляет собой хроническое отторжение трансплантата.

Ускоренный атеросклероз артерий трансплантированного сердца. В ЭМБ отсутствуют крупные ветви коронарных артерий. Поэтому этот метод не позволяет выявить ускоренный атеросклероз ТС. Его изучение ограничивается исследованием удаленных трансплантатов при ретрансплантации. Более точные данные об атеросклерозе ТС получают при

ангиографическом исследовании крупных ветвей коронарных артерий (проф. Б.Л. Миронков).

Хроническое отторжение трансплантированного сердца. Васкулопатия с поражением мелких ветвей коронарных артерий собственно представляет собой морфологический эквивалент хронического отторжения. Морфологическая манифестация этой патологии, появившаяся не ранее, чем через один год после трансплантации сердца, была выявлена в 167 (10,3%) из 1626 ЭМБ, выполненных в этот период.

В сроки, начиная со второго года после трансплантации сердца, мы наблюдали в биоптатах признаки васкулопатии с ремоделированием стенки мелких артерий, которое выражалось в отеке и пролиферации эндотелия, гипертрофии гладкомышечных клеток. Состоятельная гипертрофия заканчивалась гиалинозом стенки сосудов. Наряду с этим, в этот период были обнаружены острые васкулиты на микроциркуляторном уровне (рис. 9), что сопровождалось ярко выраженной дистрофией кардиомиоцитов. Параллельно с более тяжелым поражением стенки коронарных артерий усиливался склероз миокарда (рис. 10).

В связи с тем, что хроническое отторжение имеет антителоопосредованный характер, в его диагностике гораздо большую роль играет иммуногистохимическое, а не гистологическое исследование. Выраженные иммуногистохимические признаки хронического отторжения нам приходилось наблюдать у больных, проживших более пяти лет после трансплантации сердца. Отличительной особенностью хронической васкуло-

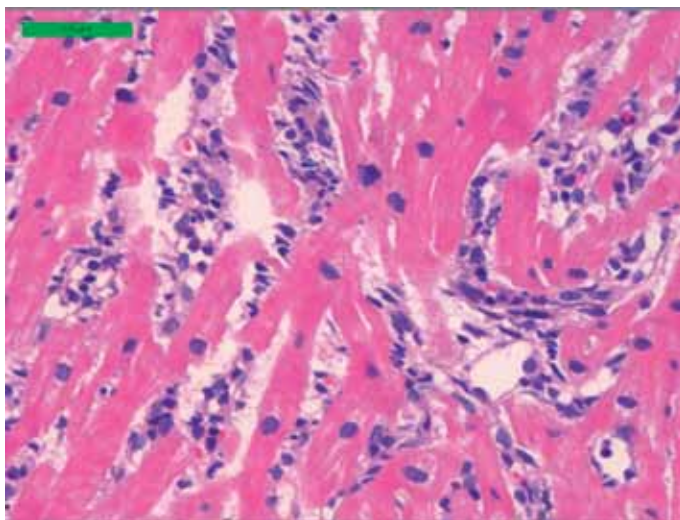


Рис. 9. Выраженные васкулиты на микроциркуляторном уровне. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

патии от острого антителоопосредованного отторжения является то, что C4d-компонент комплемента фиксируется не только в стенке капилляров миокарда, но в сарколемме кардиомиоцитов (рис. 11), а также в интима

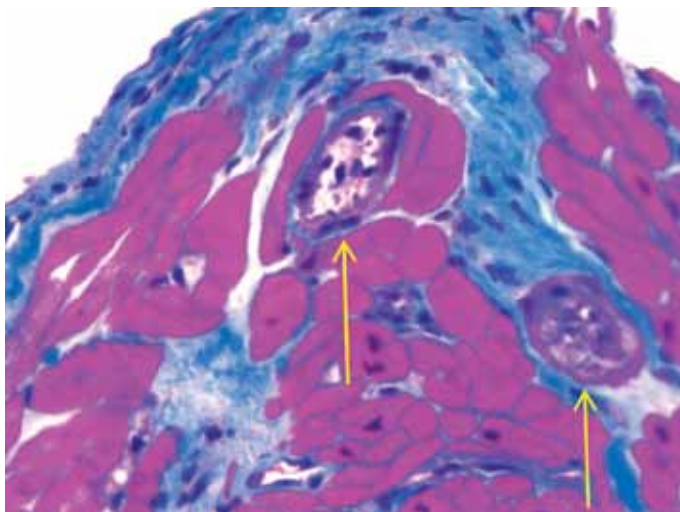


Рис. 10. Продуктивный артериит, склероз эндокарда и очаговый склероз миокарда. Окраска по Массону. $\times 400$

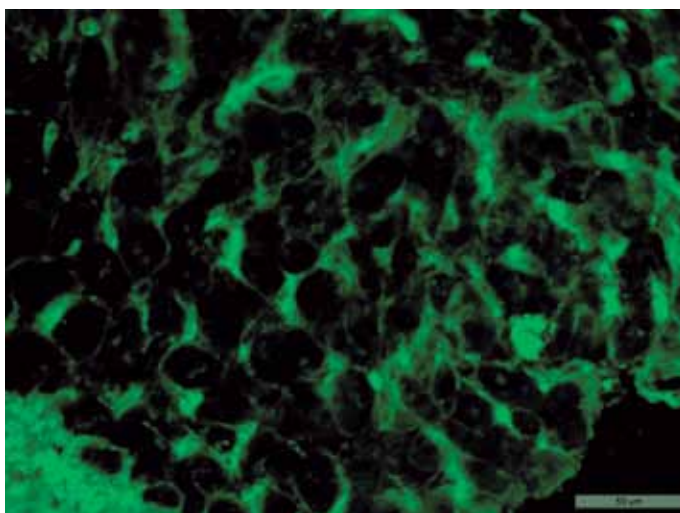


Рис. 11. Хроническая васкулопатия: фиксация C4d-фрагмента комплемента в стенке капилляров миокарда и сарколемме кардиомиоцитов. Иммунофлюоресцентный метод с моноклональными антителами против C4d-фрагмента комплемента. $\times 400$

мелких артерий (рис. 12). Другой особенностью было свечение иммуноглобулина М, в больших или меньших количествах практически во всех биоптатах.

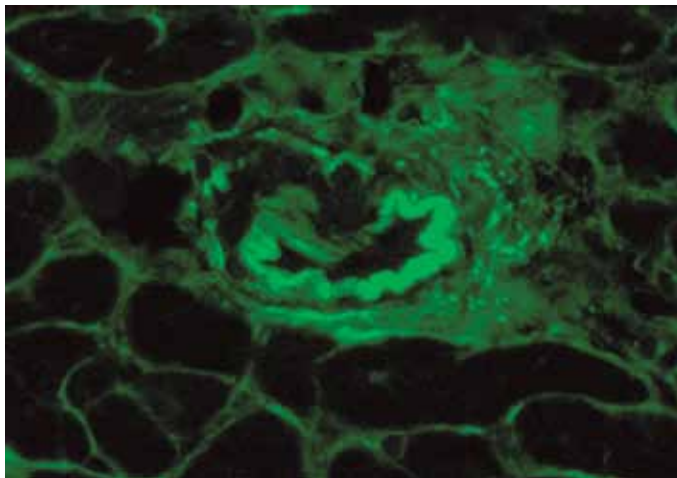


Рис. 12. Хроническая васкулопатия: фиксация C4d-фрагмента комплемента в интима артерий миокарда. Иммунофлюоресцентный метод с моноклональными антителами против C4d-фрагмента комплемента. $\times 400$

Таким образом, при хронической васкулопатии в первую очередь мишенью повреждения становится эндотелий артерий. Диагностика этой патологии в крупных артериях трансплантата при исследовании ЭМБ недоступна. Ранние морфологические признаки развития хронической васкулопатии в мелких артериях ТС при исследовании биоптатов появляются уже в первый год после трансплантации (отек и пролиферация эндотелия, гипертрофия гладкомышечных клеток среднего слоя, острые васкулиты). Наиболее ярко гистологические и иммуногистохимические проявления хронической васкулопатии (продуктивные васкулиты, фиксация C4d фрагмента комплемента в стенке артерий, по сарколемме кардиомиоцитов, отложение IgM в капиллярах миокарда) манифестируют через пять лет после трансплантации сердца.

Патоморфология удаленных трансплантатов при повторной пересадке сердца

Необходимость в ретрансплантации сердца возникает при разнообразных осложнениях, как в ранний, так и в поздний послеоперационный период. В ранние сроки после трансплантации сердца эти операции приходится выполнять при тяжелом ИРП, сверхостром и ускоренном, а также

при тяжелой степени острого клеточного или антителоопосредованного отторжения. В табл. 4 приведены причины, которые обусловили ретрансплантацию сердца.

Таблица 4

Патология, потребовавшая проведения ретрансплантации сердца

Вид патологии	Количество наблюдений	
	п	%
Миокардит трансплантированного сердца	6	21,4
Тяжелое ишемическое и реперфузионное повреждение	5	17,9
Хроническая васкулопатия	4	14,3
Предсуществующая патология донорского сердца	3	10,7
Сверхострое отторжение	3	10,7
Острый инфаркт миокарда	2	7,1
Постинфарктный кардиосклероз	3	10,7
Ускоренное отторжение	1	3,6
Тяжелое острое клеточное отторжение (R3G)	1	3,6
Всего	28	100

Миокардит трансплантированного сердца

Данное осложнение наиболее часто встречалось среди удаленных сердец ($n = 6$; 21,4%), а среди общего количества пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$) – 0,5% больных. У них при гистологическом исследовании была картина острого интерстициального миокардита с исходом в кардиосклероз.

Миокардит может развиваться не только после трансплантации сердца, но возможна его трансмиссия с донорским сердцем. В материале нашего исследования одному из пациентов было трансплантировано сердце от такого донора. После операции наблюдали признаки сердечной недостаточности, из-за которой на следующие сутки была выполнена ретрансплантация. При макроскопическом исследовании желудочки удаленного трансплантата массой 340 г, размерами $11 \times 10,5 \times 3$ см. Интима коронарных артерий на всем протяжении гладкая, блестящая, цвета слоновой кости. Просвет артерий без стенозов. Створки клапанов без особенностей. Толщина миокарда правого желудочка – 0,5 см, левого желудочка – 1,3 см. Миокард на разрезе однородный, розово-красного цвета. При гистологическом исследовании обнаружена выраженная дистрофия кардиомиоцитов, отек интерстиция с воспалительной круглоклеточной инфильтрацией, состоящей из большого количества молодых гранулоцитов (миелоцитов, нейтрофильных метамиелоцитов), эозинофильных лейкоцитов и плазмацитов. Флебиты, тромбоз воспаленных вен. Скопление

воспалительных клеток в сосудах микроциркуляторного русла, особенно в артериолах и венулах (рис. 13).

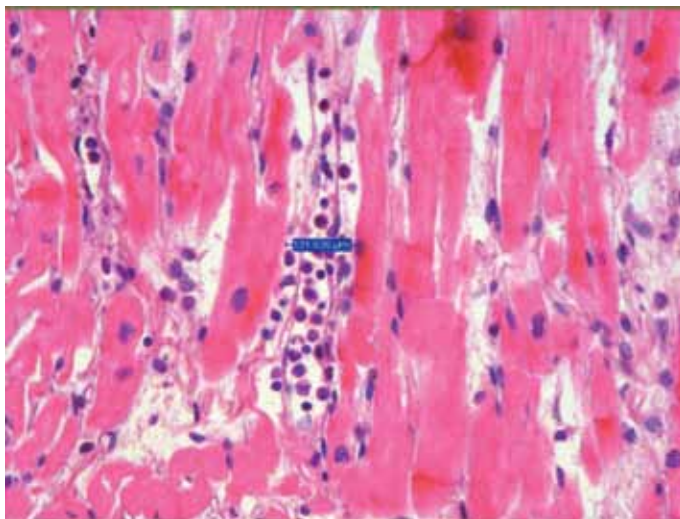


Рис. 13. Трансмиссия миокардита в трансплантате: дистрофия кардиомиоцитов, отек интерстиция, инфильтрация моноцитами, макрофагами и плазматическими клетками. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

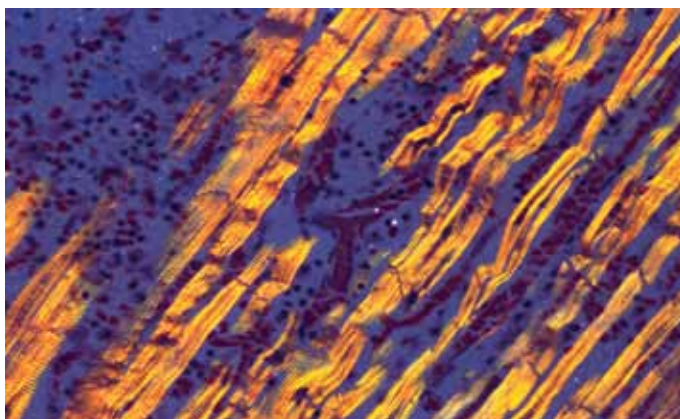
Тяжелая степень ишемического и реперфузионного повреждения трансплантированного сердца

По частоте встречаемости следующая причина ретрансплантации в нашем исследовании была тяжелая степень ишемического и реперфузионного повреждения ТС. От общего количества ретрансплантаций это осложнение было диагностировано при исследовании пяти удаленных трансплантатов (17,9%), что составило 0,5% больных от общего количества пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$). При гистологическом исследовании обнаружены дистрофия и некроз кардиомиоцитов на фоне выраженного полнокровия сосудов миокарда. В артериях и венах местами были стазы крови и свежие красные тромбы.

Хроническая васкулопатия трансплантированного сердца

От общего количества ретрансплантаций это осложнение было диагностировано при исследовании четырех удаленных трансплантатов (14,3%), что составило 0,4% больных от всех пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$). В поздние сроки после операции необходимость в ретрансплантации связана с васкулопатией проксимальных отделов коронарных артерий. Эти пациенты, как правило, переносили многократ-

ную баллонную ангиопластику со стентированием. В качестве примера приводим одно из таких наблюдений. Больному 28 лет, страдавшему дилатационной кардиомиопатией, была выполнена трансплантация сердца. Через 2 года и 9 месяцев потребовалась ретрансплантация, несмотря на то, что при ангиопластике ему в переднюю межжелудочковую ветвь были имплантированы два стента, в правую коронарную артерию – пять стентов. Огибающая ветвь левой коронарной артерии облитерирована. При гистологическом исследовании миокарда в субэпикардиальных артериях отмечены атеросклеротические бляшки. Несмотря на проходимость стентов, в миокарде левого желудочка имел место склероз интерстиция с воспалительной инфильтрацией (острое отторжение R1G), а также атрофия и фрагментация кардиомиоцитов (рис. 14).



**Рис. 14. Удаленный трансплантат сердца.
Васкулопатия: атрофия и фрагментация кардиомиоцитов.
Поляризационная микроскопия. ×400**

В патогенезе хронической васкулопатии ТС основная роль принадлежит антителоопосредованному отторжению. В нашем исследовании подтверждением этого тезиса является обнаружение большого количества плазматических клеток, которые, как известно, продуцируют антитела. Плазмциты содержатся в инфильтратах различной локализации – в эндокарде, в миокарде, в постинфарктных рубцах и в субэпикарде.

У другого пациента 65 лет, были не только атеросклеротические изменения артерий, но также продуктивные васкулиты с разрастанием субэндотелиальной соединительной ткани, что привело к уменьшению просвета артерии более чем на 80%. Такие васкулиты отмечались не только в интрамиокардиальных, но и в субэпикардиальных артериях (рис. 15). При хронической васкулопатии трансплантата мы наблюдали не только продуктивные васкулиты (рис. 16), но и тромбоз артерий, в связи с чем в

этих участках находили постинфарктный кардиосклероз, а также острый инфаркт миокарда.

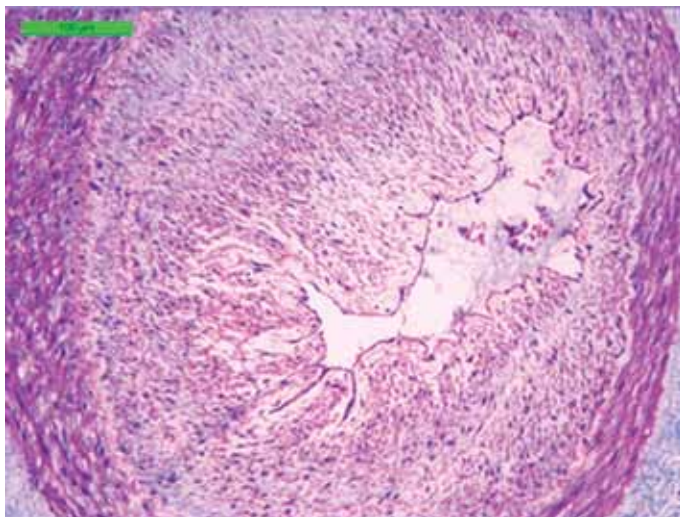


Рис. 15. Удаленный трансплантат сердца. Васкулопатия: продуктивный васкулит. Окраска трихромом по Массону. $\times 100$

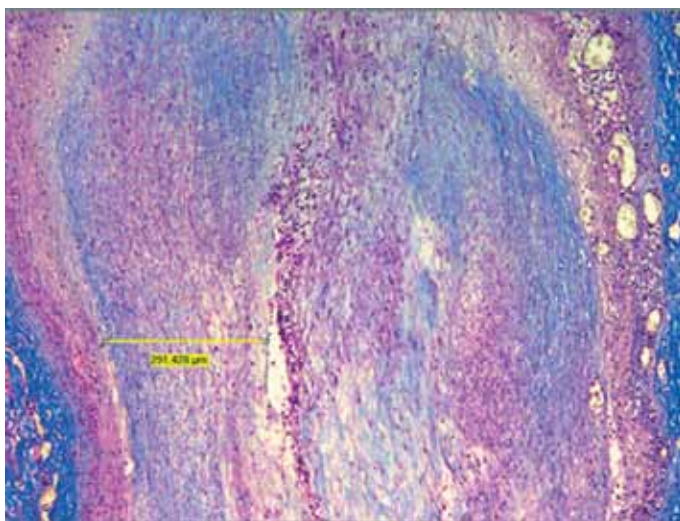


Рис. 16. Васкулопатия: продуктивный васкулит. Окраска трихромом по Массону. $\times 100$

Эти осложнения связаны от сочетания хронической васкулопатии с атеросклеротическим поражением артерий, при котором в их стенке мож-

но наблюдать массивное отложение холестерина, святающегося в поляризованном свете в связи с его анизотропией (рис. 17).

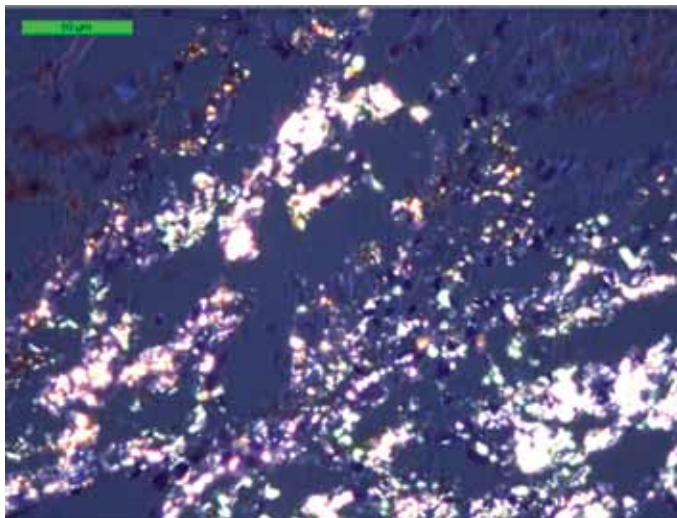


Рис. 17. Атеросклероз коронарных артерий трансплантата с массивным отложением холестерина. Поляризационная микроскопия. $\times 400$

Предшествующая патология донорского сердца. От общего количества ретрансплантаций это осложнение было диагностировано при исследовании трех удаленных трансплантатов (10,7%), что составило 0,3% больных от всех пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$).

Сверхострое отторжение трансплантированного сердца

В нашем материале среди удаленных трансплантатов обнаружено три (10,7%) наблюдения сверхострого отторжения с классической гистологической картиной. Это составило 0,3% больных от всех пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$). Приводим один из этих случаев. Больному Ц., 66 лет 28.08.2013 года была выполнена пересадка сердца. Функция трансплантата отсутствовала и на следующие сутки (29.08.2013 года) ему была сделана ретрансплантация сердца. Макроскопическое исследование: удаленные желудочки трансплантата – массой 330 г, размерами $12,5 \times 10 \times 5$ см. Эпикард с наложением сгустков крови темно-вишневого цвета. Коронарные артерии с гладкой, блестящей интимой. Толщина миокарда правого желудочка 0,3 см. Створки трикуспидального клапана без особенностей. Толщина стенки левого желудочка 1,2 см. Створки митрального и аортального клапанов без осо-

бенностей. Миокард дряблый, пестрого цвета: от красно-коричневого до темно-вишневого.

При гистологическом исследовании во всех отделах миокарда ТС была выраженная дистрофия и очаговые некрозы кардиомиоцитов. Отмечали выраженный отек интерстиция, в котором имела диффузная воспалительная инфильтрация, состоящая преимущественно из полинуклеарных лейкоцитов. Стазы крови и тромбы в сосудах микроциркуляторного русла, диффузно-очаговые кровоизлияния. В просвете сосудов выявлены скопления лейкоцитов (рис. 18).

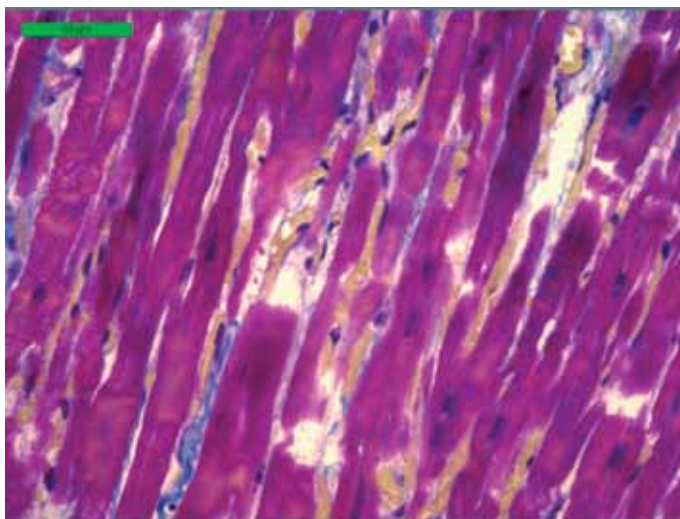


Рис. 18. Сверхострое отторжение: некроз кардиомиоцитов и тромбоз капилляров миокарда. Окраска трихромом по Массону. $\times 400$

Ускоренное отторжение трансплантированного сердца

В материале нашего исследования ускоренное отторжение было диагностировано только у одного пациента ($n = 1$; 3,6%), что составило 0,1% больных от всех пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$). Приводим результаты гистологического исследования ТС больной М., 49 лет. Во всех отделах миокарда – выраженная дистрофия кардиомиоцитов, отек интерстиция с фрагментацией коллагеновых волокон и воспалительной инфильтрацией иммунокомпетентными клетками. Среди них было небольшое количество малых лимфоцитов, а преобладали клетки моноцитарного ряда с единичными лейкоцитами. В просвете капилляров содержалось большое количество лейкоцитов, плазматических клеток различной степени зрелости, а также встречались лейкоцитарные тромбы (рис. 19).

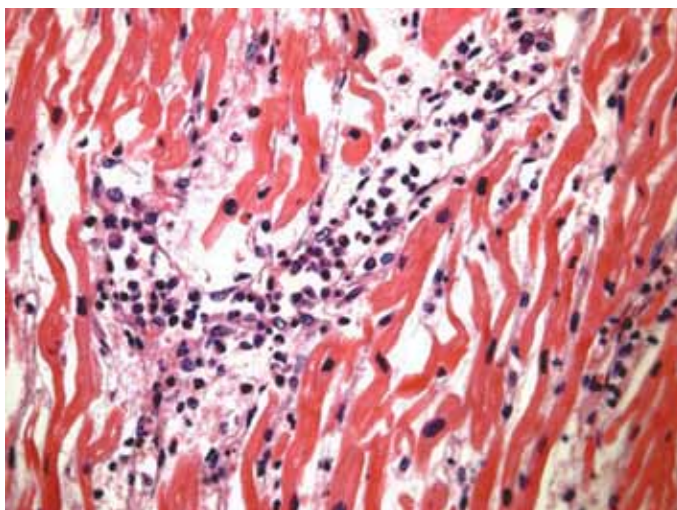


Рис. 19. Ускоренное отторжение: отек интерстиция, в просвете сосудов микроциркуляторного русла – скопление лейкоцитов и плазматических клеток. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

*Поздние кризы острого клеточного отторжения
транспантированного сердца*

В материале нашего исследования эта патология диагностирована также только у одного пациента ($n = 1$; 3,6%), что составило 0,1% больных от всех пациентов после трансплантации сердца ($n = 1103$). При резистентности к терапии тяжелого криза острого клеточного отторжения (R3G), в связи с нарастанием сердечной недостаточности, может потребоваться ретрансплантация сердца. У больного Т., 26 лет через пять лет после трансплантации сердца развился тяжелый некупируемый криз острого отторжения, и ему была выполнена повторная пересадка сердца. При гистологическом исследовании удаленного трансплантата мы выявили густую агрессивную инфильтрацию миокарда, состоящую из малых лимфоцитов, макрофагов и других воспалительных клеток. Эти иммунокомпетентные клетки полностью разрушили миокард в зоне воспаления (рис. 20). Кроме того, иммунное воспаление локализовалось не только в миокарде, но также было отмечено в эпикарде.

Таким образом, необходимость в ретрансплантации сердца в ранние сроки после операции связана с такими видами патологии, как предсуществующая патология донорского сердца, миокардит транспантированного сердца, его тяжелое ишемическое и реперфузионное повреждение, сверхострое и ускоренное отторжение; в поздние сроки – хроническая васкулопатия, острый инфаркт миокарда и постинфарктный кардиосклероз.

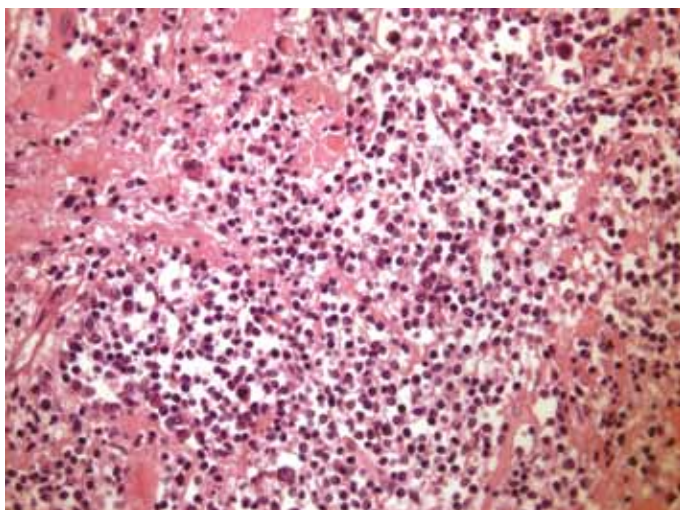


Рис. 20. Тяжелая степень острого клеточного отторжения (R3G) в трансплантате сердца. Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Алгоритм патоморфологической диагностики собственного, донорского и трансплантированного сердца

Морфологическая диагностика патологии у больных после пересадки сердца включает исследование не только непосредственно трансплантата, но также собственного сердца реципиента и донора.

Собственное сердце реципиента. При патоморфологическом мониторинге пациентов трансплантированного сердца важно знать не только факторы, влияющие на развитие патологических процессов в трансплантате, но учитывать и морфологические изменения в собственном и донорском сердцах.

Нами обнаружена гипердиагностика идиопатической дилатационной кардиомиопатии. При патологоанатомическом исследовании удаленных желудочков сердца нередко под маской этой патологии скрываются другие незоологические формы: вторичные формы дилатационной кардиомиопатии, постмиокардитический или постревматический кардиосклероз и др.

Точность диагностики заболеваний собственного сердца в определенной степени важна при прогнозировании течения отдаленного послеоперационного периода. Например, у больных, страдавших ишемической болезнью сердца, более высокий риск развития ускоренного атеросклероза на фоне хронической васкулопатии, чем у больных, у которых основным первичным заболеванием была дилатационная кардиомиопатия.

Донорское сердце. Роль мониторинга донорского сердца с каждым годом увеличивается, так как наблюдается процесс расширения критериев при отборе доноров, что повышает риск пересадки компрометированного органа. Биопсии донорского сердца до трансплантации не выполняют. Поэтому его патоморфологию мы оценивали на основании исследования материала ЭМБ, выполненных в первые две недели после операции.

Трансплантированное сердце. В мониторинге патологии трансплантированного сердца основная роль принадлежит исследованию ЭМБ. Их количество, как по протоколу, так и в диагностических целях наибольшее в первый год после операции (рис. 21).

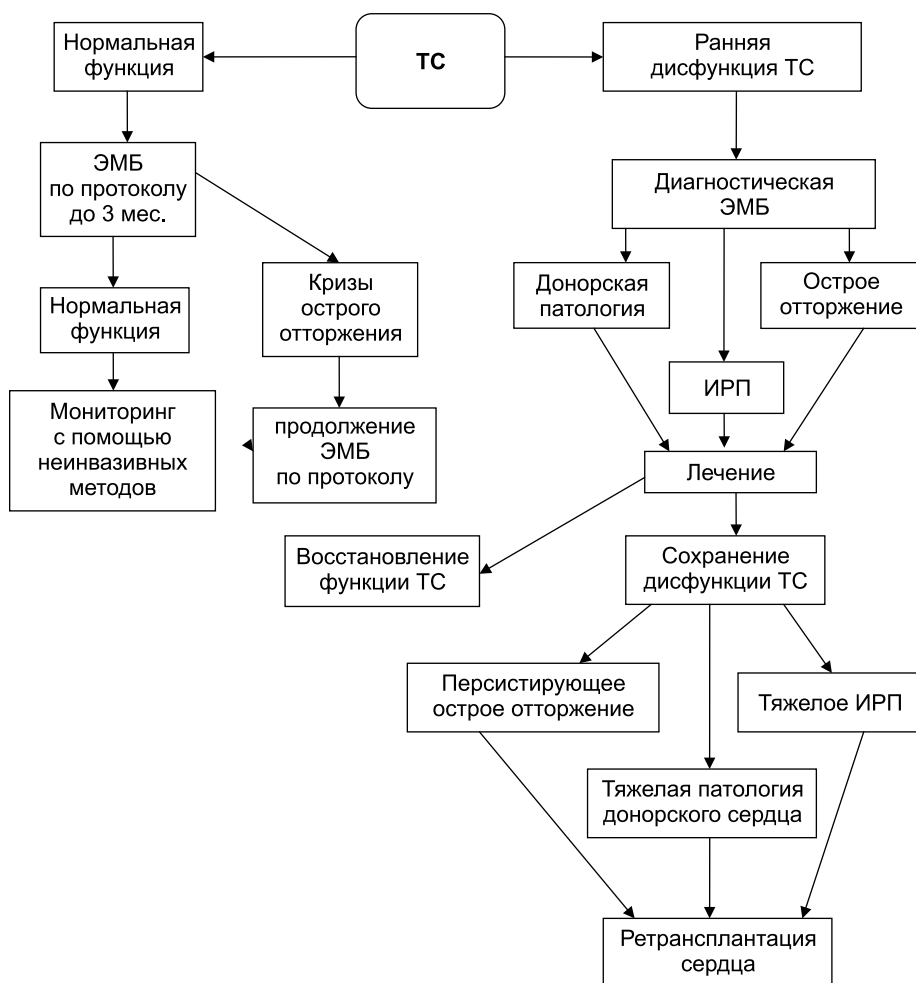


Рис. 21. Алгоритм патоморфологической диагностики патологии трансплантированного сердца в первый год после операции

При нормальной функции трансплантата ЭМБ по протоколу выполняют в течение первых трех месяцев, так как в этот период наиболее высокий риск развития острого отторжения. При отсутствии кризов в более поздний период биопсии по протоколу могут выполняться реже, в качестве их замены можно рекомендовать проведение неинвазивных методов, в частности определение содержания биомаркеров в периферической крови. В случае появления дисфункции трансплантата в ранние сроки (до трех месяцев после операции) необходимо проведение диагностических ЭМБ. В этот период причинами дисфункции чаще всего бывает острое отторжение, а также предсуществующая патология донорского сердца и ИРП. Эти осложнения, особенно острое отторжение, требуют соответствующего терапевтического вмешательства, исходами которого может



Рис. 22. Алгоритм патоморфологической диагностики патологии трансплантированного сердца в отдаленные сроки после операции

быть восстановление функции ТС, либо патология оказывается необратимой (первично-нефункционирующий трансплантат) и сохранение жизни пациента возможно только при экстренной ретрансплантации сердца.

Мы считаем, что в поздние сроки после пересадки сердца патоморфологический мониторинг должен включать ежегодное выполнение ЭМБ по протоколу даже при нормальной функции ТС (рис. 22). Они позволяют на ранних стадиях диагностировать хроническую васкулопатию. Поздние кризы острого отторжения и миокардиты могут протекать субклинически. Эти осложнения, хотя и редко, могут фигурировать в патологоанатомическом заключении ежегодных ЭМБ.

В ситуации, когда имеет место дисфункция трансплантата, выполняют диагностические ЭМБ. Ее причиной чаще всего бывает хроническая васкулопатия, но не исключено также и наличие поздних кризов острого отторжения, миокардитов и др. Лечение этих осложнений не всегда бывает эффективным и у некоторых пациентов требуется проведение срочной ретрансплантации. Хроническая васкулопатия клинико-морфологически проявляется тремя вариантами: ускоренный атеросклероз, хроническое отторжение и их сочетание. Реваскуляризация миокарда оказывается эффективной только при ускоренном атеросклерозе, а при сочетании его с хроническим отторжением единственным вариантом лечения является ретрансплантация сердца.

Выводы

1. Респициенты, которые нуждаются в трансплантации сердца, страдают терминальной стадией хронической сердечной недостаточности в исходе идиопатической дилатационной (51,9%) и ишемической кардиомиопатии (35,4%), а также вторичной дилатационной кардиомиопатии (9,2%), хронического миокардита с исходом в кардиосклероз (0,8%), гипертрофической кардиомиопатии (0,8%), ревматического кардиосклероза (0,5%), некомпактного миокарда левого желудочка (0,5%), аритмогенной дисплазии правого желудочка сердца (0,5%), перипартальной кардиомиопатии (0,3%), аномалии Эбштейна (0,1%) и дистрофии Эмери–Дрейфуса (0,1%).
2. В результате исследования материала эндомикардиальных биопсий, выполненных в течение первых двух недель после трансплантации сердца, установлено увеличение количества донорских сердец с предсуществующей патологией по мере возрастания числа доноров с расширенными критериями: в 2010–2012 годах склероз миокарда был выявлен только в 9,6%, липоматоз миокарда – 9,6%, а гиалиноз стенки мелких артерий и артериол – 7,9%. В то время, как в 2019 году – склероз миокарда обнаружен в 45,5%, липоматоз

- миокарда – 20,7%, а гиалиноз стенки мелких артерий и артериол – 46,0% биоптатах.
3. Ишемическое и реперфузионное повреждение легкой степени, не вызывающее нарушение функции трансплантированного сердца встречалось в 64,3%, умеренная степень сопровождающаяся нарушением сократительной способности миокарда – в 33,3%, тяжелая степень, связанная с высоким риском необратимой потери функции трансплантата – в 2,4%.
 4. Острое клеточное отторжение трансплантированного сердца наиболее часто (28,3%) встречается в первый год после операции; преобладает легкая степень (R1G – 26,6%), а умеренная (R2G – 1,5%) и тяжелая (R3G – 0,1%) степени встречаются редко. В сроки, превышающие один год после трансплантации сердца, кризы острого клеточного отторжения развиваются в 2,9% биопсий; легкая степень (R1G – 2,5%), умеренная (R2G – 0,5%), а тяжелая степень R3G отсутствует.
 5. Диагноз острого антителоопосредованного отторжения по классификации ISHLT-2011, основанный только фиксации C4d компонента комплемента в капиллярах миокарда, был поставлен в 7,6% биоптатов, а по классификации ISHLT-2013 с учетом гистологических признаков – в 32,4% эндомиокардиальных биоптатов.
 6. Васкулопатия трансплантированного сердца в проксимальных отделах коронарного русла представляет собой сочетание ускоренного атеросклероза и хронического отторжения. Поражение дистальных отделов коронарного русла является хроническим отторжением и встречается в 10,3% биоптатов, выполненных в сроки, превышающие один год после операции.
 7. Основными причинами необратимой дисфункции трансплантированного сердца с последующей ретрансплантацией являются миокардит с исходом в кардиосклероз (21,4%), тяжелая степень ишемического и реперфузионного повреждения (17,9%), хроническая васкулопатия трансплантата (14,3%), предсуществующая патология донорского сердца (10,7%), сверхострое (10,7%) и ускоренное (3,6%) отторжение, острый инфаркт миокарда (7,1%), постинфарктный кардиосклероз (10,7%), тяжелый поздний криз острого клеточного отторжения (3,6%).
 8. Алгоритм патоморфологической диагностики трансплантированного сердца в первые три месяца после операции требует выполнения эндомиокардиальных биопсий по протоколу. При отсутствии острых кризов отторжения до конца первого года эндомиокардиальные биопсии могут быть заменены на не инвазивные методы диагностики. В сроки свыше одного года необходимо выполнение ежегодных,

а при дисфункции трансплантата – диагностических эндомикардиальных биопсий.

Практические рекомендации

1. В процессе ведения больных после трансплантации сердца клиницистам необходимо учитывать результаты морфологического исследования собственного сердца, так как от этого зависит правильное понимание этиопатогенеза терминальной стадии хронической сердечной недостаточности. Современная тенденция расширения списка заболеваний, приведших к хронической сердечной недостаточности, требующих трансплантации сердца, делает необходимым точную их верификацию путем морфологического исследования собственных сердец, удаленных во время операции, так как от этого зависит своевременная диагностика осложнений у пациентов после пересадки сердца.
2. В клинике следует обращать внимание на то, что ранняя дисфункция трансплантированного сердца может быть вызвана предсуществующей патологией донорского сердца, которая морфологически выражается склерозом и липоматозом миокарда, а также гиалинозом стенки мелких артерий и артериол.
3. От степени ишемического и реперфузионного повреждения трансплантированного сердца зависит дальнейший исход операции. Умеренная степень требует проведения соответствующей терапии, ускоряющей регенерацию миокарда трансплантата. В клинике следует учитывать, что даже при интенсивном лечении тяжелой степени может быть необратимая потеря функции трансплантата и потребоваться ретрансплантация сердца.
4. Необходимо учитывать, что развитие острого клеточного отторжения возможно не только в ранний период после операции, но оно может манифестировать и в поздние сроки.
5. В первые три месяца после трансплантации сердца, необходимо соблюдать выполнение эндомикардиальных биопсий по протоколу. При отсутствии в эти сроки кризов острого отторжения эндомикардиальная биопсия может быть заменена на неинвазивные методы диагностики, а при наличии их необходимо продолжить выполнение эндомикардиальных биопсий по протоколу. В более поздние сроки их следует ежегодно выполнять для ранней диагностики васкулопатии трансплантированного сердца и возможных поздних кризов острого отторжения.
7. Клиницистам следует иметь в виду, что при тяжелом ишемическом и реперфузионном повреждении, кардиосклерозе, явившемся следствием миокардита, а также при васкулопатии трансплантиро-

ванного сердца существует большая вероятность в необходимости ретрансплантации.

8. В случае обнаружения при коронароангиографии гемодинамически значимых стенозов и при отсутствии поражения мелких ветвей коронарных артерий по результатам исследования эндомиокардиальных биоптатов рекомендуется проведение реваскуляризации миокарда. Если имеется хроническое отторжение, при котором поражаются мелкие ветви коронарного русла, то реваскуляризация миокарда не эффективна, и требуется ретрансплантация сердца.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Миронов С.В., Котина Е.Д., Мебония Н.Э., **Можейко Н.П.**, Куприянова А.Г., Рябоштанова Е.И., Морозов Б.Н., Ильинский И.М., Белецкая Л.В., Захаревич В.М., Казаков Э.Н., Остроумов Е.Н., Кормер А.Я., Ермоленко А.Е. Асинхрония миокарда при отторжении пересаженного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Пятого съезда трансплантологов. – 8–10 октября 2010. – С. 162.
2. Остроумов Е.Н., Котина Е.Д., Саитгареев Р.Ш., Шумаков Д.В., Казаков Э.Н., Попцов В.Н., Полоцкая Т.М., Кормер А.Я., Захаревич В.М., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Рябоштанова Е.И., Белецкая Л.В., Куприянова А.Г., Войлокова Р.Я., Пестрецова Т.В., Миронов С.В., Ермоленко А.Е. Трансплантированное сердце. Правожелудочковая недостаточность, отторжение или миокардит? // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII. – № 1. – С. 65–71.
3. Куприянова А.Г., Белецкая Л.В., Зайденов В.А., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Татиевская З.В., Шумаков Д.В. Ускоренное гуморальное отторжение аллотрансплантата сердца (клиническое наблюдение) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – № 2. – С. 70–77.
4. Остроумов Е.Н., Котина Е.Д., Шмыров В.А., Слободяник В.В., Тонкошкурова В.В., **Можейко Н.П.**, Ильинский И.М., Шумаков Д.В. Кардиосинхронизирующая терапия и перфузия миокарда левого и правого желудочков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 60–68.
5. Казаков Э.Н., Шумаков Д.В., Саитгареев Р.Ш., Попцов В.Н., Шевченко О.П., Захаревич В.М., Шемакин С.Ю., Гольц А.М., Голубицкий В.В., Халилулин Т.А., Кормер А.Я., Погребниченко И.В., Матвеев Ю.Г., Честухин В.В., Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Абрамова Н.Н., Белова А.Э., Захаревич Н.Ю., Ильинский И.М., Рябоштанова Е.И., **Можейко Н.П.**, Белецкая Л.В., Куприянова А.Г., Абрамов В.Ю., Габриэлян Н.И., Войлокова Р.Я., Орлова О.В., Шмерко Н.П. 25-летний опыт ортотопической трансплантации сердца в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» // Материалы VI всероссийского съезда трансплан-

- тологов. 24–27 сентября 2012 года. Москва. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Приложение. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 168.
6. Саитгареев Р.Ш., Шумаков Д.В., Казаков Э.Я., Попцов В.Н., Кормер А.Я., Честухин В.В., Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Абрамов В.Ю., Захаревич Н.Ю., Ильинский И.М., Куприянова А.Г., **Можейко Н.П.**, Захаревич Б.М., Гольц А.М., Халилулин Т.А. Ретрансплантация сердца // Материалы VI всероссийского съезда трансплантологов. 24–27 сентября 2012 года. Москва. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Приложение. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 179.
 7. Казаков Э.Н., Шумаков Д.В., Саитгареев Р.Ш., Попцов В.Н., Захаревич В.М., Гольц А.М., Халилулин Т.А., Кормер А.Я., Габриэлян Н.И., Абрамова Н.Н., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Голубицкий В.В., Закирьянов А.Р. Раневые инфекционные осложнения после трансплантации сердца // Материалы VI всероссийского съезда трансплантологов. 24–27 сентября 2012 года. Москва. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Приложение. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 183.
 8. Остроумов Е.Н., **Можейко Н.П.**, Мошков М.Е., Кормер А.Я., Захаревич В.М., Ермоленко А.Е., Попцов В.Н., Ильинский И.М., Казаков Э.Н., Саитгареев Р.Ш. Болезнь коронарных артерий и прогрессивное снижение перфузии верхушки пересаженного сердца // Материалы VI всероссийского съезда трансплантологов. 24–27 сентября 2012 года. Москва. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Приложение. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 189–190.
 9. Куприянова А.Г., Белецкая Л.В., Зайденов В.А., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Попцов В.Н., Казаков Э.Н., Шумаков Д.В., Саитгареев Р.Ш., Кормер А.Я., Гольц А.М., Захаревич В.М., Готье С.В. Антителоопосредованное (гуморальное) отторжение аллотрансплантата сердца при АВО-несовпадении донора и реципиента // Материалы VI всероссийского съезда трансплантологов. 24–27 сентября 2012 года. Москва. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Приложение. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 205.
 10. Куприянова А.Г., Белецкая Л.В., Зайденов В.А., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Саитгареев Р.Ш., Кормер А.Я., Гольц А.М., Захаревич В.М., Готье С.В. Нарушение макромолекулярной структуры кардиомиоцитов у реципиентов сердца как признак хронического отторжения трансплантата // Материалы VI всероссийского съезда трансплантологов. 24–27 сентября 2012 года. Москва. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Приложение. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 206.
 11. Куприянова А.Г., Белецкая Л.В., Ильинский И.М., Зайденов В.А., **Можейко Н.П.**, Саитгареев Р.Ш., Кормер А.Я., Гольц А.М., Захаревич В.М., Готье С.В. Нарушение макромолекулярной структуры кардиомиоцитов аллотрансплантата сердца как признак хронического отторжения // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2012. – Т. XIV. – № 4. – С. 17–26.
 12. Остроумов Е.Н., Котина Е.Д., Акопов Г.А., Абрамова Н.Н., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Мошков М.Е., Саитгареев Р.Ш. Гипертрофия миокарда с

- обструкции полости левого желудочка у больной с аортальным пороком как причина трансплантации сердца // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2014. – Т. 7. – № 1. – С. 73–76.
13. Сибякина А.Л., Кормер А.Я., Попцов В.Н., Шумаков Д.В., Саитгареев Р.Ш., Захаревич В.М., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Куприянова А.Г. Трансплантация сердца у пациентов с сахарным диабетом // Материалы VII Всероссийского съезда трансплантологов 28–30 мая 2014 года. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16. – Приложение. – С. 171.
14. Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Варясин В.В., Остроумов Е.Н., Кормер А.Я., Саитгареев Р.Ш., Готье С.В. Патоморфология нативных желудочков, удаленных у реципиентов при ортотопической трансплантации сердца // Материалы VII Всероссийского съезда трансплантологов 28–30 мая 2014 года. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16. – Приложение. – С. 189–190.
15. Куприянова А.Г., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Кормер А.Я., Саитгареев Р.Ш., Шумаков Д.В., Наумова М.А., Татиевская З.В., Бин Ю.Г., Зайденов В.А. Иммуноморфологические особенности антитело-опосредованного отторжения пересаженного сердца при различных клинических вариантах течения // Материалы VII Всероссийского съезда трансплантологов 28–30 мая 2014 года. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16. – Приложение. – С. 191–192.
16. Шевченко А.О., Тюняева И.Ю., Насырова А.А., Миронков Б.Л., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.** и др. Отторжение сердечного трансплантата и неинвазивные показатели функционального состояния стенки общей сонной артерии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17. – № 1. – С. 5–11.
17. Шевченко О.П., Стаханова Е.А., Шевченко А.О., **Можейко Н.П.**, Гичкун О.Е. Факторы роста эндотелия сосудов при отторжении трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17. – № 2. – С. 23–29. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2015-2-23-29>.
18. Шевченко А.О., Тюняева И.Ю., Насырова А.А., **Можейко Н.П.**, Готье С.В. Динамика показателя ригидности стенки общей сонной артерии на фоне лечения отторжения трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17. – № 3. – С. 8–13. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2015-3-8-13>.
19. Ильинский И.М., Алексеева Л.С., Зайденов В.А., **Можейко Н.П.**, Шевченко А.О., Саитгареев Р.Ш., Попцов В.Н. Связь эффекта Quilty с острым отторжением трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Т. 17 (4). – С. 17–23. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2015-4-17-23>.
20. Шевченко А.О., Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Зубкова Е.А., Олефиренко Г.А., Шевченко О.П. Некомпактный миокард у потенциальных реципиентов сердца: морфологическая верификация // Материалы VIII Всероссийского съезда трансплантологов. 27–29 июня 2016 года, г. Москва. Вестник

- трансплантологии и искусственных органов. Приложение. – Т. XVIII. – 2016. – С. 45.
21. Попцов В.Н., Спирина Е.А., Ухренков С.Г., Устин С.Ю., Алиев Э.З., Масютин С.А., Воронков В.Ю., Чибисов Н.С., Бондаренко Д.М., Мебония Н.З., **Можейко Н.П.**, Шевченко А.О. Периоперационный период при трансплантации сердца у реципиентов 60 лет и старше // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. 18 (4). – С. 56–65. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2016-4-56-65>.
22. Шевченко О.П., Улыбышева А.А., Аксенова А.В., **Можейко Н.П.**, Стаханова Е.А. и др. Диагностическое значение тромбоцитарного фактора роста PDGF-BB и ST2 при отторжении трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. 18. – № 4. – С. 71–76.
23. Стаханова Е.А., Шевченко А.О., Зубкова Е.А., **Можейко Н.П.**, Гичкун О.Е., Ильинский И.М., Шевченко О.П. Мультиплексная панель биомаркеров неоплазии и воспаления для скрининга отторжения трансплантированного сердца // Материалы VIII Всероссийского съезда трансплантологов. 27–29 июня 2016 года, г. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. – Т. XVIII. – 2016. – С. 48–49.
24. Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Шевченко А.О. Некомпактная кардиомиопатия // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. XVIII. – № 4. – С. 146–156.
25. **Можейко Н.П.**, Ильинский И.М., Миронков Б.Л., Попцов В.Н., Колоскова Н.Н. и др. Острое клеточное отторжение в поздние сроки после трансплантации сердца // Третий российский национальный конгресс с международным участием «Трансплантация и донорство органов», 2–4 октября 2017 г. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19 (3). – С. 77. doi: 10.15825/1995-1191-2017-3-6-230.
26. Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Сидорук О.С., Иванов А.С., Шумаков Д.В., Саитгареев Р.Ш., Захаревич В.М., Шевченко А.О., Попцов В.Н. Морфология некомпактного миокарда левого желудочка реципиентов, которым была выполнена трансплантация сердца // Третий российский национальный конгресс с международным участием «Трансплантация и донорство органов», 2–4 октября 2017 г. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19 (3). – С. 82. doi: 10.15825/1995-1191-2017-3-6-230.
27. Шевченко О.П., Аксенова А.В., Улыбышева А.А., **Можейко Н.П.**, Никитина Е.А. и др. Сравнительный анализ диагностической значимости панелей биомаркеров у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19 (2). – С. 27–33. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2017-2-27-33>.
28. Шевченко А.О., Никитина Е.А., **Можейко Н.П.**, Тюняева И.Ю., Колоскова Н.Н. Распространенность и предикторы артериальной гипертензии у реципиентов сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – № 3. – С. 33–39.

29. Ильинский И.М., **Можейко Н.П.**, Шевченко А.О., Колоскова Н.Н., Иванов А.С., Захаревич В.М., Саитгареев Р.Ш., Попцов В.Н. Трансплантация сердца молодому человеку 19 лет с обширным постинфарктным кардиосклерозом в сочетании с лимфоцитарным миокардитом // Материалы девятого Всероссийского съезда трансплантологов, 17–19 сентября 2018 года, г. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – С. 47.
30. Ильинский И.М., Алексеева Л.С., **Можейко Н.П.**, МIRONKOV Б.Л., Шевченко А.О., Захаревич В.М., Саитгареев Р.Ш., Попцов В.Н. Иммуногистохимическая характеристика эффекта Quilty при остром отторжении трансплантированного сердца // Материалы IX Всероссийского съезда трансплантологов, 17–19 сентября 2018 года, г. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20. – С. 48.
31. Ильинский И.М., Иванов А.С., **Можейко Н.П.**, Луговский М.К. Результаты клинико-морфологического исследования пациентов с изолированным некомпактным миокардом левого желудочка сердца. Материалы IV российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов» 7–9 октября 2019 года. Москва. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Приложение. – С. 59.
32. Колоскова Н.Н., Попцов В.Н., Захаревич В.М., Муминов И.И., **Можейко Н.П.** и др. Гендерные аспекты развития кризов антителоопосредованного отторжения и васкулопатии трансплантата у реципиентов пересаженного сердца: опыт одного центра // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21 (1). – С. 17–22. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2019-1-17-22>.
33. Шевченко О.П., Улыбышева А.А., Гичкун О.Е., **Можейко Н.П.**, Стаханова Е.А и др. Галектин-3 при отторжении и фиброзе трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 3. – С. 62–68.
34. Шевченко О.П., Улыбышева А.А., **Можейко Н.П.**, Гичкун О.Е., Стаханова Е.А. и др. Диагностическая значимость галектина-3 при патологии миокарда трансплантированного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22 (1). – С. 8–15. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-1-8-15>.

Патенты

1. Шевченко А.О., Насырова А.А., Тюняева И.Ю., **Можейко Н.П.**, Шевченко О.П., Готье С.В. Способ оценки эффективности иммуносупрессивной терапии у реципиентов трансплантированного сердца. Пат. 2609794 Российская Федерация, МПК А61В 8/00 от 03.02.2017. Госрегистр 03.02.2017, опубл. 03.02.2017, Бюл 4.
2. Шевченко О.П., Стаханова Е.А., **Можейко Н.П.**, Ильинский И.М., Шевченко А.О., Ефимова А.В., Готье С.В. Способ скрининговой диагностики

острого клеточного отторжения трансплантированного сердца. Патент № 2618404. Дата государственной регистрации 03.05.2017.

3. Шевченко О.П., Стаханова Е.А., **Можейко Н.П.**, Ильинский И.М., Шевченко А.О., и др. Способ скрининговой диагностики острого клеточного отторжения трансплантированного сердца. Пат. 2614726 Российская Федерация, МПК G01N 33/53 от 28.03.2017. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2016108046; заявл. 09.03.2016; опубл. 28.03.2017, Бюл 10.
4. Шевченко О.П., Улыбышева А.А., Гичкун О.Е., Стаханова Е.А., **Можейко Н.П.**, Шевченко А.О., Готье С.В. Способ неинвазивной диагностики фиброза миокарда трансплантированного сердца в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, перенесших острое отторжение. Пат. 2709193 на изобретение Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Госрегистр 01.10.2019.

Главы в монографиях

1. Ильинский И.М., Белецкая Л.В., Рябоштанова Е.И., Куприянова А.Г., **Можейко Н.П.** Глава 3. Патоморфология // Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца / Под ред. академика В.И. Шумакова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2008. – 156 с. – тираж 1500 экз. – ISBN 978-5-8948-1711-8.
2. Белецкая Л.В, Куприянова А.Г., Гольц А.М., Зайденов В.А., **Можейко Н.П.**, Саитгареев Р.Ш. Признаки молекулярно-биологических нарушений кардиомиоцитов при дилатационной кардиомиопатии // Очерки клинической трансплантологии / Под ред. С.В. Готье. – М., 2009. – С. 285–324.

Список сокращений

ИРП	– ишемическое и реперфузионное повреждение
ТС	– трансплантированное сердце
ЭМБ	– эндомиокардиальная биопсия
ISHLT	– The International Society for Heart and Lung Transplantation, Международное общество трансплантации сердца и легких
IL-17	– интерлейкин-17
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
G1R	– легкая степень острого клеточного отторжения
G2R	– умеренная степень острого клеточного отторжения
G3R	– тяжелая степень острого клеточного отторжения

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

МУЛЬТИМОДАЛЬНАЯ БРОНХОСКОПИЯ В ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ

Беков М.Т., 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

Трансплантация легких (ТЛ) – одно из самых трудоемких направлений в клинической трансплантологии. От первых попыток трансплантации в 1963 году до 20-х гг. XXI века во всем мире было выполнено более 64 000 операций ТЛ [Yusen R., 2016; Готье С.В., 2020].

Рост количества и улучшение как непосредственных, так и отдаленных результатов операций напрямую зависит от научно-технического прогресса, развития и совершенствования иммуносупрессивной, анти-микробной терапии, совершенствования методов анестезиологических и реанимационных пособий, использования мультидисциплинарного подхода с привлечением специалистов различного профиля [Паршин В.Д., 2010].

Эндоскопическая диагностика и интервенционная мультимодальная бронхоскопия занимают одну из ведущих позиций в обеспечении функционирования программы трансплантации легких, начиная от этапов оценки потенциального донора и регулярных бронхоскопических санаций в раннем послеоперационном периоде до диагностики и коррекции бронхиальных осложнений на разных сроках после операции [Becker H.D., 2010; Panchabhai T.S., 2015; Carlos F.D., 2019].

Отдельное место занимает метод криобиопсии трансплантата легких, являющийся «золотым стандартом» в диагностике облитерирующего бронхиолита. Применение современных эндоскопических методов, таких как узкоспектральный режим (NBI), визуализация высокого разрешения с технологией компьютерной обработки изображения являются перспективными направлениями диагностики ранних признаков бронхиальных осложнений [Manley C., 2019; Dutau H., 2018].

К сожалению, в современных отечественных трансплантационных программах отсутствуют единые методические рекомендации, регламен-

тирующие применение эндоскопических методов коррекции бронхиальных осложнений у реципиентов донорских легких [Пашков И.В., 2020].

Цель исследования

Определение роли мультимодальной бронхоскопии в трансплантации легких, оценка эффективности методов интервенционной бронхоскопии в коррекции бронхиальных осложнений после трансплантации легких.

Задачи исследования

1. Изучить характер и частоту бронхиальных осложнений у реципиентов легких.
2. Оценить роль эндоскопического мультимодального подхода в лечении бронхиальных осложнений у реципиентов легких.
3. Сформировать эндоскопический протокол на основе наблюдательной бронхоскопии.
4. Систематизировать результаты эндоскопических наблюдений для создания классификаций бронхиальных осложнений после трансплантации легких.

Научная новизна

- Впервые изучены и обобщены результаты применения мультимодальной интервенционной бронхоскопии и применении узкоспектрального режима визуализации (NBI) в оценке репаративных процессов дыхательных путей трансплантированных легких.
- Создана новая эндоскопическая классификация посттрансплантационных анастомозитов и бронхитов, на основании которой сформирован единый эндоскопический протокол послеоперационного ведения реципиентов.
- Показана эффективность использования криотехнологий, в том числе криобиопсии трансплантатов, в ранней диагностике отторжения трансплантата легких.
- Установлена определяющая роль применения бронхоскопии в реабилитации пациентов после трансплантации легких.

Практическая значимость исследования

- На основании результатов исследования создана прогностическая модель развития бронхиальных осложнений на донорском этапе.
- Определена клиническая эффективность методов мультимодальной интервенционной бронхоскопии в коррекции бронхиальных осложнений в посттрансплантационном периоде.

- Создан протокол динамического наблюдения пациентов, перенесших эндоскопическую коррекцию бронхиальных осложнений, в отдаленные сроки после операции.

Методология и методы диссертационного исследования

В ходе выполнения работы были использованы методики мультимодальной интервенционной бронхоскопии и методы статистической обработки полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту

- Методы мультимодальной бронхоскопии позволяют значимо улучшить клинические результаты трансплантации легких с помощью использования ригидной и гибкой бронхоскопии, баллонной бронхопластики, криоабляции и аргоно-плазменной коагуляции.
- Созданная оригинальная классификация бронхиальных осложнений у реципиентов донорских легких содержит описание слизистой бронхов, зоны анастомоза, состояние просвета и бронхиального секрета трансплантата легких.
- Разработанный эндоскопический протокол позволяет контролировать репаративные процессы в трансплантате легких.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечена достаточным объемом клинических исследований (71 пациент после трансплантации легких) с использованием клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования, анализа, современных методов статистической обработки данных.

Апробация работы состоялась 9 июля 2020 года на объединенной конференции научных, клинических отделений и лаборатории федерального государственного 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) и 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).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в клиническую работу хирургического отделения № 3 федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; в программу обучения 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).

Материалы и методы

Характеристика клинических наблюдений

Исследование выполнено на основании анализа 71 наблюдения трансплантаций легких, проведенных в Национальном медицинском исследовательском центре трансплантации и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Минздрава России за период с 7 сентября 2014 года по 10 апреля 2020 года. Среди прооперированных реципиентов были 27 пациентов женского пола, в возрасте от 13 до 59 лет (средний возраст $34,8 \pm 14,7$ лет) и 44 пациента мужского пола, в возрасте от 10 до 74 лет (средний возраст $34,7 \pm 14,5$ лет). Из них 6 пациентов детского возраста, в возрасте от 10 до 17 лет (средний возраст $13,8 \pm 2,48$ лет).

Распределение по нозологическим формам представлено в табл. 1.

Таблица 1

Распределение реципиентов по нозологиям

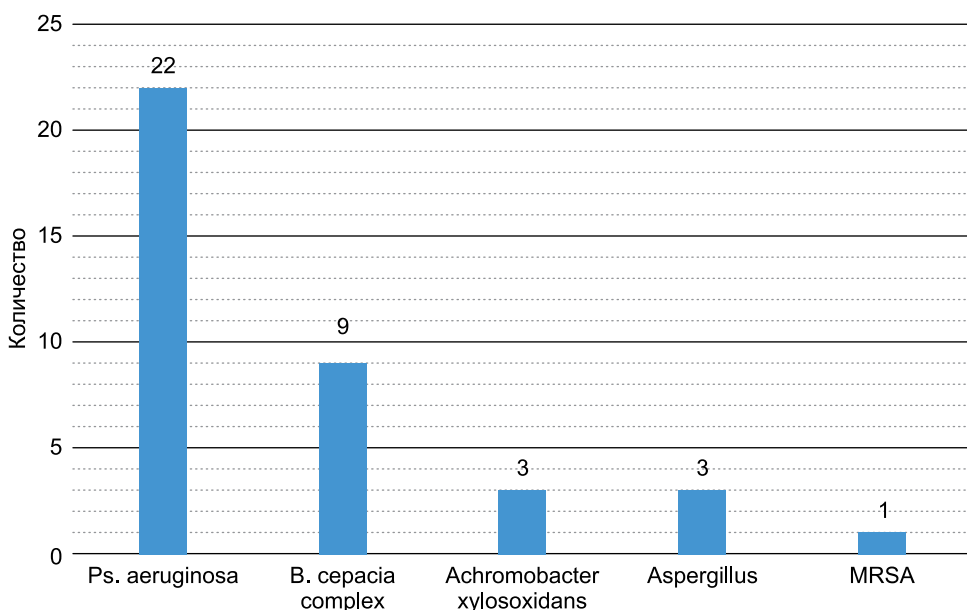
Диагноз	п (из них дети)	%
Муковисцидоз	25 (4)	35,2
Хроническая обструктивная болезнь легких	14	19,7
Первичная легочная гипертензия	11 (1)	15,4
Легочный фиброз в исходе интерстициальных заболеваний	6 (1)	8,4
Идиопатический легочный фиброз	5	7,04
Лимфангиолейомиоматоз	5	7,04
Эмфизема легких в исходе альфа-1-АТ недостаточности	2	2,8
Бронхоэктатическая болезнь	2	2,8
Первичная эмфизема легких	1	1,4
Всего	71	100

Из них 63 двусторонние последовательные трансплантации легких, 6 – односторонних трансплантаций (4 правосторонних, 2 левосторонних), 1 – билобарная трансплантация легких и 1 – симультантная трансплантация легких и печени.

Хроническое инфицирование полирезистентной микрофлорой

Всего у 38 реципиентов анамнестически выявлено хроническое инфицирование.

В ходе бактериологического исследования мокроты и бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) пациентов или согласно анамнестическим данным в 22 случаях установлено хроническое инфицирование трахеобронхиального дерева *Ps. aeruginosa*, а в 9 случаях – в ассоциации с *Burkholderia cepacia* complex (BCC). В трех случаях наблюдалась ассоциация с грибами рода *Aspergillus*. У 3 реципиентов диагностирована контаминация *Achromobacter xylosoxidans* и в одном случае метициллинрезистентный стафилококк (MRSA), рис. 1.



**Рис. 1. Микрофлора в мокроте и бронхоальвеолярном лаваже у реципиентов легких до трансплантации.
MRSA – метициллинрезистентный стафилококк**

Время ишемии легочных трансплантатов

Время общей ишемии трансплантата – это время от начала фармако-холодовой консервации и до реперфузии трансплантата. Время общей

ишемии первого трансплантата (ВОИТ 1) в среднем составила – $475 \pm 103,15$ мин. Время общей ишемии второго трансплантата (ВОИТ 2) в среднем составила – $653 \pm 109,13$ мин.

Время холодовой ишемии – время с момента начала перфузии легких охлажденным консервирующим раствором и продолжающееся весь период холодовой консервации.

Время тепловой ишемии трансплантата легких – время от момента погружения трансплантата в рану и до реперфузии. Включает в себя ВТИТ 1 и ВТИТ 2. Время ишемии трансплантатов представлено на рис. 2.

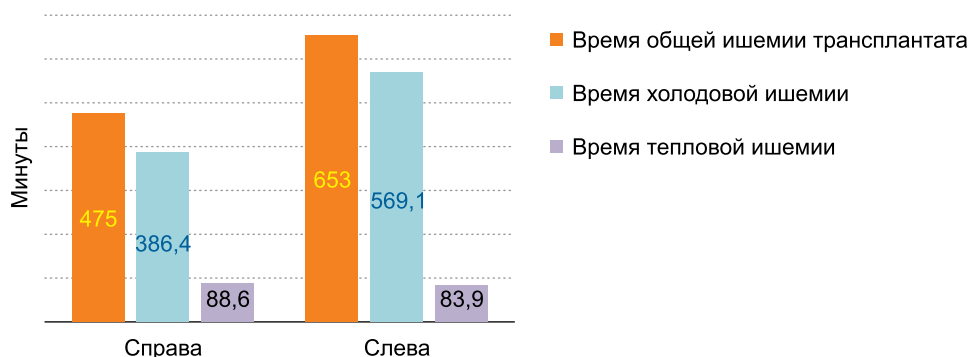


Рис. 2. Характеристика продолжительности ишемии трансплантата

Время тепловой ишемии первого легкого (ВТИТ 1): $88,6 \pm 38,7$ мин.

Время тепловой ишемии второго легкого (ВТИТ 2): $83,9 \pm 18,4$ мин.

Среднее время холодовой ишемии трансплантата правого легкого составило (ВХИ 1): $386,4 \pm 88,68$ мин.

Среднее время холодовой ишемии трансплантата левого легкого составило (ВХИ 2): $569,1 \pm 98$ мин.

Время общей ишемии первого трансплантата (ВОИТ 1) в среднем составила – $475 \pm 103,15$ мин.

Время общей ишемии второго трансплантата (ВОИТ 2) в среднем составила – $653 \pm 109,13$ мин.

Узкоспектральная визуализация слизистой трансплантированных легких

У реципиентов донорских легких подслизистое сосудистое сплетение представляет собой одну из ключевых структур, повреждающихся в раннем послеоперационном периоде. Узкоспектральная визуализация высокого разрешения является современным методом эндоскопии, который позволяет визуализировать степень васкуляризации и состояние микроциркуляторного русла слизистой оболочки бронхиального дерева, в том

числе и трансплантата легких. Что в свою очередь представляет ценность в ранней оценке репаративных процессов и осложнений в послеоперационном периоде.

На сегодняшний день в открытых источниках нет данных визуализации слизистой бронхиального дерева трансплантата в узкоспектральном режиме (NBI) в раннем и позднем послеоперационном периоде.

Всем реципиентам, включенным в исследование, выполнялась бронхоскопия в раннем и позднем послеоперационном периоде, с использованием узкоспектрального режима NBI.

NBI-исследование и анализ изображений

Исследование проводилось на эндоскопическом оборудовании Olympus BF-Q190 EXERA III в сочетании с процессором CV-190 EXERA III и источником света CLV-190 Xenon EXERA III с возможностью передачи изображения HDTV высокой четкости в белом свете и в режиме узкого спектра (NBI). В этой системе используется ксеноновый источник света и установленный вращающийся узкополосный фильтр. С помощью этого устройства длины волн в видимом спектре фильтруются с исключением узких полос в синем (415 нм) и зеленом (540 нм) спектрах. Размер диапазонов длин волн составляет 30 и 20 нм (полуширина) соответственно. Длины волн узкополосных фильтров выбраны на основе более ранних исследований, в которых по сравнению с широкополосным освещением был продемонстрирован повышенный контраст для сосудистых узоров. Этот феномен связан с тем, что у гемоглобина есть пиковые спектры поглощения коротких волн. В свою очередь данный алгоритм улучшает резкость эндоскопического изображения. С помощью данного метода капиллярный рисунок усиливается, чем другие структурные составляющие, и, следовательно, улучшается визуализация за более мелкими изменениями структуры слизистой оболочки.

Все исследование в узкоспектральном режиме были записаны с помощью системы аналогово-цифрового преобразователя (PinnacleMovieBox DV, PinnacleSystems, Брауншвейг, Германия) на портативном компьютере. Дальнейший анализ изображений проводился на втором этапе вне эндоскопического отделения. На следующем этапе изображения были обработаны и измерены на компьютеризированной основе (программное обеспечение analySIS, версия 5.0, SoftImagingSystem, Olympus, Мюнстер, Германия).

Характеристика материалов и методов, использованных в создании протоколов бронхиальных осложнений у реципиентов легких

В русскоязычной медицинской литературе отсутствуют публикации научных работ или исследований, посвященных вопросу диагностики и

лечения бронхиальных осложнений после ТЛ. Равно как и рекомендации, посвященные этой теме. Рост количества реципиентов донорских легких, продолжительности наблюдений, требует систематизации уже накопленного опыта, формирования протоколов по наблюдению, выявлению и лечению осложнений со стороны дыхательных путей в разные сроки после операций. Выполнено обзорное систематическое исследование данных крупных мировых центров трансплантологии, за последние годы, с целью выработки соответствующих методов коррекции бронхиальных осложнений. Источниками материалов в поиске публикаций послужили:

1. База данных Национальной медицинской библиотеки Соединенных Штатов Америки (PubMed). Поиск осуществлялся по ключевым фразам: airway complication after lung transplantation, lung transplantation, treatment of airway complications following lung transplantation, infections complications after lung transplantation, endoscopic management of bronchial stenosis after lung transplantation и другие. Поиск был ограничен временным интервалом (1990–2020), типом публикации (мета-анализ, обзор литературы, клинические рекомендации), языком публикации (русский и английский) и объектом исследования (человек).
2. Поисковая система Google scholar. Поиск осуществлялся по ключевым фразам: airway complication after lung transplantation, lung transplantation, treatment of airway complications following lung transplantation, endoscopic management of bronchial stenosis after lung transplantation и другие. Поиск был ограничен временным интервалом (2000–2020), типом публикации (обзор литературы, рандомизированные исследования, практические рекомендации), языком публикации (английский) и объектом исследования (человек).
3. В одном из крупнейших в мире издательств в сфере научной медицинской литературы Elsevier. Поиск осуществлялся по ключевым фразам: airway complication after lung transplantation, lung transplantation, endoscopic management of bronchial stenosis after lung transplantation и другие. Поиск был ограничен временным интервалом (2000–2020), типом публикации (обзор литературы, рандомизированные исследования, практические рекомендации), языком публикации (английский) и объектом исследования (человек).

В сети интернет с помощью поисковой системы Google и в Базы данных Национальной медицинской библиотеки Соединенных Штатов Америки (PubMed) было найдено более 590 статей, соответствующих критериям поисковых запросов по теме бронхиальных осложнений после трансплантации легких. Из них на основе критериев включения было выбрано 10 статей. Суммарный перечень литературных источников, которые были использованы для составления протокола бронхиальных осложнений после трансплантации легких, представлен в табл. 2.

Таблица 2

**Литературные источники, использованные при составлении
протокола бронхиальных осложнений у реципиентов донорских
легких**

№	Основные темы работ	Тип публикации	Страна	Автор и год публикации
1	Бронхиальные осложнения у реципиентов легких	Обзор исследований	Южная Корея	Eun Na Cho, Suk Jin Haam et al., 2015 г.
2	Ведение реципиентов легких с бронхиальными осложнениями	Многоцентровое исследование	США, Австрия, Австралия, Бельгия, Швеция	Maria M. Crespo, Daniel P. McCarthy et al., 2018 г.
3	Бронхоскопия в трансплантации легких	Обзор исследований	Бразилия	D.B. Takizawa et al., 2020 г.
4	Лечение бронхиальных осложнений у реципиентов легких	Практические рекомендации	США	A.K. Mahajan, S.J. Khandhar et al. 2019 г.
5	Бронхиальные осложнения у реципиентов легких	Практические рекомендации	США	J.F. Santacruz, A.C. Mehta, 2009 г.
6	Интервенционная бронхоскопия после трансплантации легких	Мультицентровое исследование	США, Германия	C. Kroegel, K. Hekmat, A. Möser et al. 2011 г.
7	Криобиопсия трансплантата легких	Мультицентровое исследование	Англия, Испания, Швеция	M. Angeles Montero, Javier de Gracia et al. 2019 г.
8	Лечение бронхиальных осложнений у реципиентов легких	Обзор исследований	Франция	Andrea Mazzetta, Michele Porzio et al. 2019 г.
9	Бронхиальные осложнения у реципиентов легких	Обзор литературы	Испания	Andrés Varela, Lucas Hoyos et al. 2019 г.
10	Стентирование бронхов после трансплантации легких	Обзор исследований	Бразилия	H.V.S. Fonesca, L.R. Iuamoto et al. 2015 г.

Методы статистической обработки данных

Для обработки полученных данных производили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ для

научно-технических расчетов IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США). Для проверки нормальности распределения использовался критерий Шапиро–Уилка. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$), верхние и нижние границы 95%-ого доверительного интервала (95% ДИ) 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 Краскал–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

Осложнения после трансплантации легких

В исследование включен 71 реципиент донорских легких, прооперированных с сентября 2014-го по апрель 2020 года. Выживаемость реципиентов в течение 3 месяцев после операции составила 83%.

Средняя продолжительность госпитализации всех реципиентов составила $38,5 \pm 19,5$ дней.

Основной причиной смерти в раннем послеоперационном периоде являлась полиорганная недостаточность (в 13 случаях), в 1 случае – острая сердечная недостаточность.

Осложнения послеоперационного периода представлены на рис. 3.



Рис. 3. Осложнения послеоперационного периода.
ЛТ – легочный трансплантат

В послеоперационном периоде встречались следующие осложнения:

- 1) отторжения легочного трансплантата – 6 наблюдений;
- 2) хирургические осложнения – 18 наблюдений;
- 3) бронхиальные осложнения: ранние 8 случаев, поздние 14 наблюдений;
- 4) инфекционные осложнения – 2 случая);
- 5) гастроинтестинальные осложнения – 4 наблюдения).

Острое отторжение легочного трансплантата

У 6 реципиентов (6,9%) в раннем послеоперационном периоде наблюдалось развитие острого отторжения, что было установлено на основании клинко-рентгенологической картины, в том числе данных компьютерной томографии грудной клетки и по данным бронхоскопии, после исключения других причин (табл. 3).

Таблица 3

Пациенты, перенесшие эпизод острого отторжения

	Ф. И. О.	Диагноз до трансплантации легких	Сроки манифестации осложнения	Терапия
1	М., 13 лет, пол: жен.	МВ	13 сутки после операции	ГКС 1500 мг
2	Г., 47 лет, пол: жен.	ИЛФ	8 сутки после операции	ГКС 2250 мг
3	Б., 20 лет, пол: жен.	МВ	32 сутки после операции	ГКС 2250 мг
4	С., 51 год, пол: муж.	ХОБЛ	89 сутки после операции	ПФ + МКАТ
5	Г., 30 лет, пол: муж.	ПЛГ	1 сутки после операции	ГКС 2250 мг
6	П., 62 года, пол: муж.	ХОБЛ	70 сутки после операции	ГКС 2250 мг

Примечание. МВ – муковисцидоз; ИЛФ – идиопатический легочный фиброз; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; ПЛГ – первичная легочная гипертензия; ГКС – глюкокортикостероиды; ПОН – полиорганная недостаточность; ПФ – плазмаферез; МКАТ – моноклональные антитела.

Во всех случаях острого отторжения (6 наблюдений) клиническая картина проявлялась в виде острой дыхательной недостаточности. При выполнении видеобронхоскопии отмечалось наличие пенистого секрета в дыхательных путях. По данным КТ органов грудной клетки отмечалось наличие диффузного интерстициального отека. Ввиду высокого риска развития кровотечения в 5 наблюдениях трансбронхиальная биопсия не проводилась, так как реципиенты получали заместительную почечную терапию или находились на системе ЭКМО. По данным инструментальных исследований и тщательного анализа результатов, после исключения

других возможных причин, вызывающих аналогичную клиническую картину, проводилась пульс-терапии метилпреднизолоном.

Из 6 случаев эпизода острого отторжения в раннем послеоперационном периоде летальность отмечена 1 случае от ПОН на 20 сутки после операции.

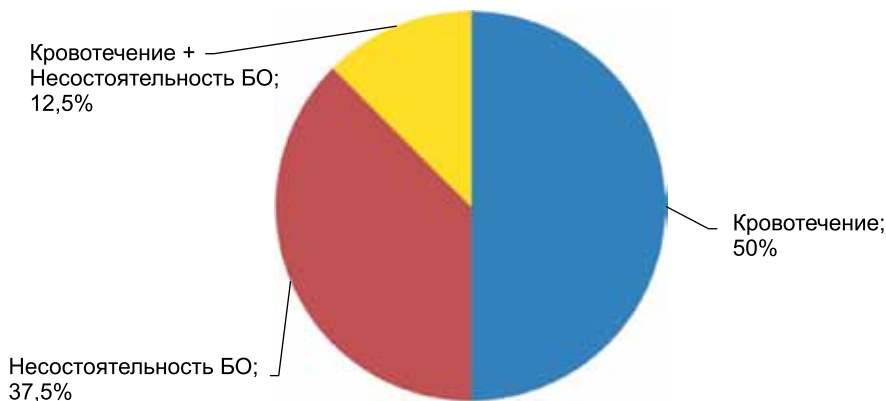
В 1 случае выполнена биопсия трансплантата легких, по результатам которой подтверждено антителоопосредованное отторжение, купированное проведением плазмафереза, с последующей терапией моноклональными антителами. На фоне проводимого лечения отмечена положительная клиничко-рентгенологическая динамика с разрешением явлений дыхательной недостаточности.

Роль бронхоскопии в диагностике острого отторжения трансплантата легких заключается в выполнении биопсии, с целью дифференцировки типа отторжения и выраженности процесса.

Ранние бронхиальные осложнения

Бронхиальные осложнения в раннем послеоперационном периоде наблюдались у 8 пациентов, что составило 11%.

Характер бронхиальных осложнений в раннем периоде после трансплантации легких представлено на рис. 4.



**Рис. 4. Распределение ранних бронхиальных осложнений по видам.
БО – бронхиальные осложнения.**

Несостоятельность бронхиального анастомоза

У 4 реципиентов развилась несостоятельность бронхиального анастомоза. Средний срок развития – $14 \pm 2,8$ суток. Во всех случаях возникновения несостоятельности бронхиального анастомоза была выполнена реторакотомия с ушиванием дефекта. В 2 случаях выполнена трансплантэктомия ввиду неэффективности проводимого лечения.

У двух пациентов отмечена положительная динамика на фоне консервативной терапии.

Легочное кровотечение

Легочное кровотечение отмечено в 4 случаях, что составляет 5,5% от общего числа осложнений. Средний срок развития – 45 ± 34 суток.

При возникновении эпизодов легочного кровотечения применялся комплексный подход в лечении, заключающийся в консервативной гемостатической терапии, а также применении методов эндоскопического гемостаза: аргано-плазменной коагуляции, тампонады источника кровотечения. В 2 случаях выполнен эндоскопический гемостаз путем применения интервенционной бронхоскопии с применением криохирургических технологий и аргано-плазменной коагуляции. При неэффективности выполнялась тампонада бронха гемостатической губкой или тампоном с аминокапроновой кислотой. Тампонада осуществлялась на срок 24–48 часов.

Поздние бронхиальные осложнения

Процент поздних бронхиальных осложнений составил 19%. Поздние бронхиальные осложнения представлены:

Рубцовыми стенозами бронхов легочного трансплантата – 11.

Гипергрануляционными стенозами бронхов легочного трансплантата – 2.

Экспираторным пролапсом – 1.

Рубцовые стенозы бронхов легочного трансплантата

Виды рубцовых стенозов бронхов в позднем периоде после трансплантации легких представлены на рис. 5.

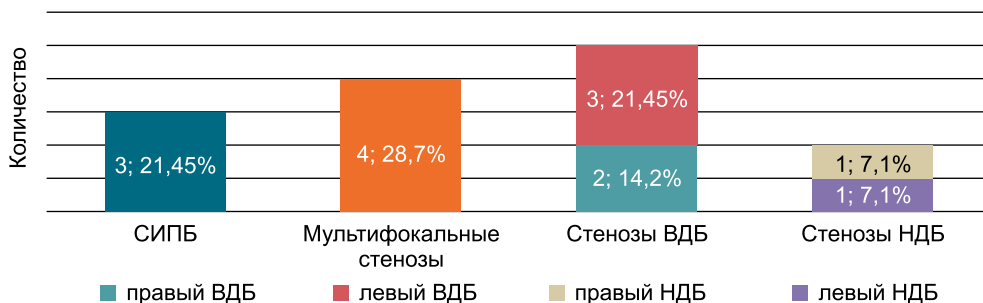


Рис. 5. Количественное распределение рубцовых стенозов бронхов.
СИПБ – синдром исчезающего промежуточного бронха;
ВДБ – верхнедолевой бронх; НДБ – нижнедолевой бронх

Синдром исчезающего промежуточного бронха – в 3 случаях – 21,45%. Средний срок возникновения $7,3 \pm 2,49$ месяцев. Мультифокальные стенозы – в 4 случаях – 28,7%. Средний срок возникновения $9,5 \pm 5$ месяцев. Стеноз правого верхнедолевого бронха – в 2 случаях – 14,2%. Средний срок возникновения $7,5 \pm 4,5$ месяцев. Стеноз левого верхнедолевого бронха – в 3 случаях – 21,45%. Средний срок возникновения $13,6 \pm 3$ месяца. Стеноз правого нижнедолевого бронха – в 1 случае – 7,1%. Стеноз левого нижнедолевого бронха – в 1 случае – 7,1%. Стеноз промежуточного бронха – наблюдался в 3 (5,5%) случаях среди всех реципиентов позднего послеоперационного периода.

Выводы

1. Бронхиальные осложнения в послеоперационном периоде встречаются в 28% случаев. В раннем послеоперационном периоде бронхиальные осложнения встречались в 11,2% случаев и представлены с равной частотой кровотечением и несостоятельностью бронхиального анастомоза. В позднем послеоперационном периоде бронхиальные осложнения встречаются в 19,7% случаев, из них мультифокальные стенозы наблюдаются в 28,7% случаев; синдром исчезающего промежуточного бронха в 21,45% случаев; стенозы верхнедолевого бронха слева в 21,45% случаев; стенозы верхнедолевого бронха справа в 14,2% случаев; стенозы нижнедолевого бронха справа в 7,1% стенозы нижнедолевого бронха слева 7,1%.
2. Интервенционная бронхоскопия является основным методом диагностики и лечения бронхиальных осложнений в послеоперационном периоде. Мультимодальный подход заключается в поэтапном применении методов ригидной и гибкой бронхоскопии, баллонной бронхопластики, стентирования, криоабляции и аргонплазменной коагуляции, что в совокупности позволяет добиться значимых результатов в коррекции бронхиальных осложнений.
3. Сформирован протокол эндоскопической оценки состояния бронхиального дерева легочного трансплантата в послеоперационном периоде, позволяющий контролировать процессы репарации бронхиального дерева в ключевые сроки после трансплантации легких. Предложенная градация этапов репарации позволяет прогнозировать риски развития тех или иных бронхиальных осложнений в различные сроки после трансплантации.
4. Собственная классификация бронхиальных осложнений у реципиентов донорских легких учитывает состояние слизистой бронхов; зоны анастомоза; степень стенозирования просвета бронха; характер секрета. Данная классификация позволяет получить полный спектр данных о состоянии бронхиального дерева трансплантата.

Практические рекомендации

1. Для диагностики бронхиальных осложнений в раннем послеоперационном периоде после трансплантации легких показано выполнение регулярной наблюдательной видеобронхоскопии, как основного метода в оценке состояния бронхиального дерева трансплантата легких.
2. Для выполнения эндоскопической реканализации бронха, целесообразно применение многокомпонентного поэтапного подхода, включающего в себя баллонную бронхопластику, аргонплазменную деструкцию рубцовой ткани, криореканализацию и стентирование.
3. Для экстракции постгеморрагических сгустков из бронхиального дерева рекомендуется применять криозонд.
4. Всем реципиентам донорских легких рекомендуется проводить регулярную оценку микробиологического портрета и коррекцию антибактериальной терапии на основании результатов анализа бронхоальвеолярного лаважа.
5. В качестве метода временной остановки легочного кровотечения целесообразно выполнять эндоскопическую тампонаду кровоточащего бронха марлевыми тампонами или гемостатической губкой.
6. Методом выбора при стентировании бронхов легочного трансплантата является применение полупокрытых или покрытых стентов.
7. Для оценки васкуляризации слизистой бронхов легочного трансплантата и выявления предикторов бронхиальных осложнений целесообразно использование узкоспектрального режима NBI.
8. При выполнении трансбронхиальной биопсии легочного трансплантата предпочтение рекомендуется отдавать методу криобиопсии.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Современные аспекты лечения стенозов гортани и трахеи после функционально-щадящих операций / Л.Г. Кожанов, В.В. Соколов, **М.Т. Беков**, А.Л. Кожанов // Злокачественные опухоли. – 2014. – № 3 (10). – С. 145–146.
2. К вопросу реабилитации больных после резекций гортани / Л.Г. Кожанов, **М.Т. Беков**, А.С. Лапченко, А.Л. Кожанов // Head and Neck. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. – 2015. – № 4. – С. 63.
3. Алгоритм реабилитации больных раком гортани после открытых функционально-щадящих операций / Л.Г. Кожанов, А.М. Сдвижков, И.В. Решетов, А.И. Крюков, С.А. Кравцов, А.Л. Кожанов, **М.Т. Беков** // Вестник оториноларингологии // 2016. – Т. 81. – № 3. – С. 43–47.

4. Клинический опыт открытых резекций гортани / Л.Г. Кожанов, А.М. Сдвижков, А.Л. Кожанов, С.А. Кравцов, **М.Т. Беков**, М.В. Мулярец // Опухоли головы и шеи. – 2017. – Т. 7. – № 4. – С. 35–40.
5. Эндоскопическая коррекция просвета гортани после открытых резекций гортани / Л.Г. Кожанов, **М.Т. Беков**, А.Л. Кожанов // Head and Neck. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. – 2016. – № 3. – С. 64.
6. Обобщение опыта трансплантации легких ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» / С.В. Готье, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, Д.О. Олешкевич, Р.А. Латыпов, А.Г. Сухорукова, **М.Т. Беков**, Е.Ф. Шигаев // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 5. – С. 60.
7. 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. Олешкевич, **М.Т. Беков** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 86–96.
8. Особенности клинического течения коронавирусной инфекции COVID-19 у реципиентов сердца, почки, печени: первые результаты национального многоцентрового наблюдательного исследования «РОККОР-реципиент» / С.В. Готье, А.О. Шевченко, О.М. Цирульникова, С.М. Хомяков, О.Н. Котенко, В.Е. Виноградов, И.Н. Абызов, Г.Д. Аветисян, А.Ю. Анисимов, Л.Ю. Артюхина, **М.Т. Беков** и соавт. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 8–17.
9. Трансплантация легких при муковисцидозе: первые результаты / С.В. Готье, И.В. Пашков, О.М. Цирульникова, В.Н. Попцов, Д.О. Олешкевич, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова, **М.Т. Беков**, С.А. Красовский // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 50–51.
10. Интервенционная бронхоскопия в лечении бронхиальных стенозов у реципиентов донорских легких / **М.Т. Беков**, И.В. Пашков, Д.О. Олешкевич, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 52.
11. Коррекция синдрома исчезающего промежуточного бронха после трансплантации легких у пациента с муковисцидозом и хроническим инфицированием В. Serasia complex / И.В. Пашков, **М.Т. Беков**, О.М. Цирульникова, Д.О. Олешкевич, Р.А. Латыпов., Е.Ф. Шигаев, Сухорукова А.Г. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 5. – С. 53–54.
12. Связь экспрессии микроРНК с показателями функции внешнего дыхания у пациентов с хронической дыхательной недостаточностью и реципиентов легких / О.П. Шевченко, С.О. Шарапченко, Цирульникова О.М., И.В. Паш-

ков, **М.Т. Беков**, Д.О. Олешкевич, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № S. – С. 55–56.

Список используемых сокращений

АД	– артериальное давление
БАЛ	– бронхоальвеолярный лаваж
БЭБ	– бронхоэктатическая болезнь
ИВЛ	– искусственная вентиляция легких
ИЛФ	– идиопатический легочный фиброз
ИМТ	– индекс массы тела
ЛАМ	– лимфангиолейомиоматоз
ЛГ	– легочная гипертензия
ЛФ	– легочный фиброз в исходе интерстициальных заболеваний
МВ	– муковисцидоз
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
СПН	– степень прогнозируемого несоответствия
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ХОБЛ	– хроническая обструктивная болезнь легких
ЦВД	– центральное венозное давление
ЧМТ	– черепно-мозговая травма
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЭКГ	– электрокардиография
ЭКМО	– экстракорпоральная мембранная оксигенация (система бивентрикулярного обхода сердца, дополненная мембранной оксигенацией)
ЭхоКГ	– эхокардиография
P _{peak}	– пиковое давление в дыхательных путях
SpO ₂	– сатурация крови
TLC	– прогнозируемая общая емкость легких (totallungcapacity)
V _t	– дыхательный объем

АЛЛОГЕННЫЕ КОСТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Воробьев К.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

Количество операций с использованием костнопластических материалов в мире колеблется от 3,5 до 4 миллионов ежегодно (Henkel J. et al., 2014) и тенденция к росту продолжает сохраняться (Badwin P. et al., 2019). Костная трансплантация выполняется в 10 раз чаще, чем других органов и тканей и занимает второе место после применения компонентов крови (Nandi S.K. et al., 2010). Рост количества реконструктивно-пластических операций на скелете можно объяснить увеличением числа высокотехнологичных операций (все виды эндопротезирования), а соответственно, и количества повторных операций. По данным большинства национальных регистров артропластики коленного и тазобедренного суставов, одной из наиболее актуальных причин растущих потребностей в костнопластических материалах является увеличение ревизионных вмешательств на крупных суставах, которые сопровождаются замещением дефекта в зоне имплантации компонентов эндопротеза (Тихилов Р.М. с соавт., 2013; Загородний Н.В. с соавт., 2014; Корнилов Н.Н. с соавт., 2015; Мухаметов У.Ф. с соавт., 2016; Loma R. et al., 2013).

Широкое применение аллогенных костнопластических материалов традиционно для детской ортопедии, в реконструктивных операциях при костной патологии и деформациях костей у детей, стоит отметить, что количество пациентов данной группы продолжает увеличиваться ежегодно, что объясняется как ростом заболеваемости, так и выявляемости в связи с доступностью диагностики (Снетков А.И. с соавт., 2003; Поздеев А.П. с соавт., 2010; Бандурашвили А.Г. с соавт., 2014).

Аутологичные ткани считаются «золотым стандартом» трансплантации, но в случаях, когда их применение ограничено или невозможно – первой альтернативой считаются аллогенные ткани (Lowty J. et al., 2006;

Henkel J. et al., 2014). Донорские ткани и аллогенные костнопластические материалы являются предпочтительными среди прочих биологических и синтетических пластических материалов, поскольку соблюдается один из ведущих принципов трансплантологии – внутривидовой специфичности тканей (Готье С.В., 2018). В органной трансплантации главной задачей является сохранение жизнеспособности органа, при пересадке аллогенных тканей решающее значение имеет сохранность их биологической активности и структуры, случае обработки и стерилизации, которая, в конечном итоге, и определяет положительный результат лечения (Имамалиев А.С., 1975; Кирилова И.А., 2011).

Анализируя состояние деятельности отечественных тканевых банков, было отмечено, что остаются сложности и коллизии в нормативно-правовом регулировании в сфере донорства и трансплантации тканей в России (Готье С.В. с соавт., 2018; Путило Н.В., 2019), нет единых стандартов, на которых базируются технологии обработки и стерилизации тканей (Савельев В.И., 2001; Савельев В.И. с соавт., 2009; Шангина О.Р. с соавт., 2019). В результате производимые костнопластические материалы различны по своим свойствам и не всегда соответствуют качеству, что затрудняет повторяемость и прогнозируемость клинических результатов, а иногда приводит к осложнениям после имплантации (Волков А.В., 2015).

Современной мировой тенденцией стало развитие технологий регенеративной медицины и разработка модифицированных материалов с улучшенными или направленными свойствами (Миронов С.П. с соавт., 2007; Севастьянов В.И., 2014; Готье С.В., 2019; Самойлов А.С. с соавт., 2019). Костнопластические материалы перестали быть статическими и присущая им ранее инертность, сменяется функциональной активностью, посредством нанесения на них культур клеток, биологически-активных веществ, факторов роста, которые стимулируют процессы остеогенеза (Ардашев И.П. с соавт., 2011), либо фиксации на материалах фармакологических субстанций и продуктов генной инженерии (Деев Р.В. с соавт., 2015). В связи с этим, одной из задач биоимплантологии является применение технологий при обработке и стерилизации тканей, позволяющих создавать скаффолды для тканеинженерных конструкций или дальнейшей модификации материалов (Василец В.Н. с соавт., 2010; Бухарова Т.Б. с соавт., 2011; Волова Л.Т. с соавт., 2012; Матвейчук И.В. с соавт., 2013; Севастьянов В.И. с соавт., 2017; Brydone A.S. et al., 2010).

Цель исследования

Создание аллогенных костнопластических материалов с улучшенными биосовместимыми и функциональными свойствами.

Задачи исследования

1. Разработать оригинальный способ децеллюляризации и делипидизации губчатой кости, основанный на рекомендациях и стандартах мировых тканевых банков.
2. Исследовать *in vitro* биосовместимые свойства лабораторных образцов полученных аллогенных костнопластических материалов.
3. Провести сравнительный анализ *in vitro* функциональных свойств образцов костнопластических материалов, заготовленных по разработанной методике и другими способами.
4. На экспериментальной модели полостных дефектов большеберцовой кости кролика:
 - оценить особенности перифокальных реакций тканей после имплантации образцов костнопластического материала.
 - исследовать процессы ремоделирования имплантированного костнопластического материала и регенерации поврежденной костной ткани.

Научная новизна

1. Разработан оригинальный способ обработки аллогенной губчатой костной ткани без использования токсичных химических веществ.
2. В экспериментах *in vitro* доказана способность полученного аллогенного костнопластического материала поддерживать адгезию и пролиферацию остеогенных клеток.
3. На экспериментальной модели полостных дефектов большеберцовой кости доказана высокая способность костного имплантата к ремоделированию, что приводит к восстановлению поврежденной кости без наличия выраженных воспалительных реакций.
4. Научно обоснована и экспериментально подтверждена возможность дальнейшего применения полученного костнопластического аллогенного материала в клинической практике для реконструктивной хирургии при патологии костных тканей.

Практическая значимость

1. Разработанный аллогенный костнопластический материал расширяет возможности технологий реконструктивной и заместительной хирургии на костных тканях.
2. Применение полученного материала в сочетании с культурой клеток, факторами роста, аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой, аспиратом костного мозга и антибактериальными препаратами позволяет рекомендовать его для создания тканеинженерных конструкций – биомедицинских клеточных продуктов, как для

эффективного замещения дефекта костной ткани, так и для стимуляции процессов ее регенерации.

Методология и методы исследования

1. Модифицированные протоколы выделения, культивирования, подтверждения фенотипа и дифференцировки в остеогенном направлении ММСК из костного мозга бедренной кости крысы линии Wistar, основанные на классических методиках.
2. Метод физической и химической децеллюляризации и делипидизации аллогенной губчатой костной ткани. Полученный костный матрикс будет стерилизован радиационным способом и исследован на биологическую безопасность.
3. Морфологические методы исследования с применением окрасок гематоксилином-эозином и окраской по методу Малори для оценки перифокальных реакций тканей и процессов остеоинтеграции ткани реципиента с имплантатом.
4. Метод сканирующей электронной микроскопии использовался для визуальной оценки состояния минерально-коллагенового матрикса костных блоков.
5. Рентгенологический метод – мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) для оценки процесса ремоделирования имплантированного материала.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработанный способ обработки губчатой костной ткани, позволяет получить костнопластический материал, обладающий остеоиндуктивными и остеокондуктивными свойствами.
2. Полученный по оригинальной методике костнопластический материал продемонстрировал низкую цитотоксичность, высокую степень биосовместимости и способность поддерживать адгезию и пролиферацию клеток.
3. Способы децеллюляризации, делипидизации и стерилизации, применяемые к губчатой костной ткани при изготовлении имплантатов для реконструктивной хирургии на скелете, влияют на функциональные свойства костнопластического материала.
4. Разработанный по оригинальной методике костнопластический материал, является апиrogenным, биосовместимым, биodeградируемым и стимулирующим процессы костеобразования имплантатом.

Степень достоверности и апробации результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований. В исследованиях *in vitro* использованы клеточные культуры ММСК крыс линии Wistar, выделенных по оригинальному протоколу; в экспериментах *in vivo* моделирование костного дефекта выполнено (в общем) на 96 сегментах нижних конечностей 48 кроликов породы Шиншилла с применением современных лабораторных и инструментальных методов анализа (сканирующая электронная микроскопия, рентгенологический – мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ), бактериологический, радиационный, методы физической и химической децеллюляризации и делипидизации, методы работы с клеточными линиями), а также адекватных методов статистической обработки данных.

Апробация работы состоялась 2 июля 2020 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.

Результаты работы были представлены и доложены на российских и международных конференциях: VII Всероссийский симпозиум с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии» (Астрахань, 2017 г.); III Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2017 г.); Всероссийская конференция с международным участием «Биологические аспекты замещения костных дефектов и взаимодействия имплантат–кость» (Санкт-Петербург, 2017 г.); XI Всероссийский съезд травматологов-ортопедов (Санкт-Петербург, 2018 г.); 19-й международный конгресс европейского общества травматологов-ортопедов (Барселона, Испания, 2018 г.); IX Всероссийский съезд трансплантологов (Москва, 2018 г. работа удостоена призового места); Всероссийская научная конференция «Современные проблемы гистологии и патологии скелетных тканей» (Рязань, 2018 г.); Евразийский ортопедический форум EOF (Москва, 2019 г.); X научно-практическая конференция с международным участием «Сверхкритические флюиды: фундаментальные основы, технологии, инновации» (Ростов-на-Дону, 2019 г.); IV Российский национальный конгресс с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019 г.); XVIII ассамблея «Здоровая Москва» (Москва, 2020 г.); Конгресс по ортобиологии «Технологии регенеративной медицины в травматологии и ортопедии» (Москва, 2020 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в отдел 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, в лабораторию «Тканевой Банк» Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в отделение травматологии и ортопедии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения города Москвы», а также в образовательный процесс на кафедре травматологии, ортопедии и артрологии факультета непрерывного медицинского образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов».

Материалы и методы исследования

Костнопластические материалы

Тестировали четыре группы костнопластических материалов:

Контрольная группа (КГ) имплантаты, заготовленные химическим способом, на основе человеческой губчатой кости (головка бедренной кости) взятой от посмертных доноров очищенной до минерально-коллагенового костного матрикса, стерилизованной химическим способом. Данные импланты получали в костном банке из морозильной камеры -20, полностью погруженными в стерилизующую морозостойкую многокомпонентную жидкую среду (патент РФ № 2235462) и герметично упакованные в полиэтиленовые пакеты, согласно технологии.

Первая группа сравнения (ГС1) – материалы на основе губчатой аллокости из головки бедренной кости, резецированной во время операции первичного эндопротезирования тазобедренного сустава, заготовленной термическим способом по технологии TELOS в приборе LobatorSD-2 (TelosGmbH, Германия) в соответствии с инструкциями производителя.

Вторая группа сравнения (ГС2) – высокоочищенный ксеногенный биоматериал «Остеоматрикс» (коммерческий продукт) на основе кости, представляющий собой композицию природного коллагена и гидроксиапатита (ГАП) в сочетании с сульфатированными гликозаминогликанами (сГАГ) расфасованный в стеклянные флаконы по 20 см³, лиофилизированных, стерилизованных ионизирующим излучением дозой 18 кГр.

Опытная группа (ОГ) – аллогенный материал на основе губчатой аллокости заготовленный по разрабатываемой экспериментальной методике очистки циклическим способом, лиофилизированный и стерилизованный радиацией. Для изготовления материала использовалась губчатая кость от прижизненных доноров, взятая из головок бедренных костей, резецированных в ходе операции (первичной тотальной артропластики тазобедренного сустава) и губчатая кость из мыщелков бедренной и большеберцовой костей от доноров-трупов.

Работа с культурой клеток

В работе использовались культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), выделенные из костного мозга (КМ) крыс линии Wistar. Для выделения ММСК использовали содержимое костномозгового канала бедренной кости крыс линии Wistar, общее количество – 10 крыс самок в возрасте 6–8 недель, весом 200–210 г. Для культивирования использовали стандартную ростовую среду: раствор DMEM Gluta MAX с низким содержанием глюкозы, 15% эмбриональной телячьей сыворотки, 100 мкг/мл стрептомицина и 100 Ед/мл пенициллина (LifeTechnologies, Великобритания), модифицированную остеогенную и хондрогенные среды. Подтверждение фенотипа ММСК выполняли на проточном цитометре CytoFLEX (BeckmanCoulter, США), для этого использовали клетки четвертого пассажа.

Остеогенная и хондрогенная дифференцировка ММСК

Для остеогенной дифференцировки ММСК культивировали при +37 °С в 24-луночной планшете (Eppendorf, Германия) в количестве 100×10^3 на лунку в течение 14 дней. Остеогенную среду заменяли на свежую каждые 3 дня. Остеогенез оценивали по наличию отложений кальция на поверхности клеточного монослоя окрашиванием клеток ализариновым красным. Для хондрогенной дифференцировки ММСК засевали в количестве 100×10^3 в 96-луночный планшет (Eppendorf, Германия) и выращивали при +37 °С в течение 21 дня. Хондрогенную среду заменяли свежей каждые 3 дня. Хондрогенез оценивали с помощью ПЦР в реальном времени.

Выделение экстракта костных блоков, определение в нем концентрации белка и pH

Костные блоки помещали в центрифужные пробирки объемом 50 мл (Eppendorf, Германия), содержащие стандартную питательную среду без эмбриональной бычьей сыворотки. Количество среды составляло 2 мл на блок, всего 10 блоков в пробирке. Образцы инкубировали при +37 °С в шейкере при скорости 200 об/мин. Через 24 полученную среду собирали

и центрифугировали на скорости 2000 об/мин в течение 10 мин. Концентрацию белка в экстракте костных блоков определяли в соответствии с инструкциями производителя на флуориметре Qubit 3.0 с использованием набора для анализа белка Qubit (ThermoFisherScientific, США). Количество белка в контрольной среде вычитали из значений образцов для получения конечных концентраций. Образцы бессывороточной среды служили отрицательным контролем.

Оценка воздействия экстракта костных блоков на жизнеспособность ММСК

Степень жизнеспособности ММСК определяли методом МТТ. Подсчет процента нежизнеспособных клеток проводили с помощью флуоресцентной микроскопии на микроскопе EVOS FL (ThermoFisherScientific, США) при 4-кратном увеличении использованием фильтров DAPI / GFP. Процент мертвых клеток (зеленый) был рассчитан по отношению к общему количеству ядер клеток (синий) с использованием плагина счетчика клеток в Image J Fiji1.51n.

Жизнеспособность ММСК в костных блоках

Оценка жизнеспособности осуществлялась после инкубирования костных блоков в клеточной среде, для этого измеряли оптическую плотность с длиной волны 540–620 нм на приборе ThermoEMS (ThermoFisherScientific, США). Среднее значение плотности контрольных блоков без клеток вычитали из полученных значений исследуемых образцов.

Сканирующая электронная микроскопия образцов костнопластических материалов

Визуализацию минерально-коллагенового матрикса губчатого вещества полученных костных блоков проводили на сканирующем электронном микроскопе Jeol JSM 6390LA (Япония). Для исследования использовали 12 образцов материалов, взятых в случайном порядке.

Моделирование полостного дефекта и костная пластика

Для моделирования дефекта и имплантации тестируемых материалов использовали кроликов породы Шиншилла (средний возраст 7 мес., средняя масса 2,7 кг). Эксперименты выполняли на большеберцовой кости 48 половозрелых особей на обеих конечностях животного, всего – 96 макропрепаратов. Для моделирования полостного дефекта в межмышечковой зоне большеберцовой кости выполняли оперативное вмешательство на обеих задних конечностях. Доступ к проксимальному отделу больше-

берцовой кости осуществляли из кожного разреза 2 см от передне-медиальной поверхности формирования полостного дефекта использовали костный булавовидный бор диаметром 8 мм, с помощью которого формировали полостной дефект глубиной до эндоста противоположной стороны кортикальной стенки – до 10–12 мм.

Гистологические и морфометрические методы исследования

Для гистологического исследования выполняли резекцию проксимального отдела большеберцовой кости с суставной поверхностью тибиального плато на границе верхней/средней трети большеберцовой кости, удаляя мягкие ткани. Фиксировали полученный материал в 10% растворе нейтрального формалина (рН 7,4). Экспериментальный материал после фиксации декальцинировали в 25% растворе соли органической кислоты «Трилон Б» в течение 72 часов, обезвоживали в изопропанолe восходящей концентрации с использованием установки проводки материала Microm STR-120 (MicronTechnology, США) и заливали в парафин, применяя заливочную станцию Leica (Германия). Срезы толщиной 5–7 мкм получали с помощью санного микротомa Leica (Германия). Окраску проводили гематоксилином и эозином согласно протоколам производителей (Био-Витрум, Россия) с использованием автоматического линейного стейнера RaffaelloAdvanced (DIAPATH, S.p.A., Италия). Микроскопическое исследование и фотодокументирование выполняли с помощью светового микроскопа «Leica» (Германия), оснащенного цифровой камерой «Nikon» (Model E950, Япония) с увеличением 40, 100, 200 и 400 раз.

Во всех четырех экспериментальных группах оценивали особенности перифокальных реакций, остеointеграции и ремоделирования тестируемых костных образцов с 7-х до 90-х суток после замещения полостных дефектов большеберцовой кости у кроликов по следующим параметрам: 1) наличие/отсутствие и клеточный состав воспалительного инфильтрата; 2) наличие/отсутствие фиброзной капсулы и ее гистологические особенности; 3) наличие/отсутствие и сроки возникновения новообразованных костных балок; 4) наличие/отсутствие плотной волокнистой соединительной (фиброзной) ткани; 5) анализ ангиогенеза и состояния гемопоэтического компонента; 6) сроки биоинтеграции имплантата. Для количественного анализа структурных компонентов использовали морфометрическую сетку Г.Г. Антандилова, установленную в объектив X10 микроскопа МИКМЕД-6 (ЛОМО).

Мультиспиральная компьютерная томография

Исследование выполняли на томографе ToshibaAquilionPrime (Япония) (параметры 120 кВ, 50 мА, фильтр Bone, толщина среза 0,5 мм). При проведении МСКТ проксимального отдела большеберцовой кости кроликов

оценивали: 1) границы костного дефекта; 2) характер содержимого зоны дефекта, заполненной костнопластическим материалом; 3) размер дефекта кортикальной пластинки входного отверстия дефекта; 4) особенности резорбции и ремоделирования имплантированного материала. Исследование выполняли на 7, 21, 45 и 90 сутки, согласно запланированным срокам. Визуализацию полученных данных выполняли с помощью программы efilm и программы *Siemenssyngo fastView*.

Статистический анализ результатов

Анализ результатов работы с культурой клеток проводили с повторными исследованиями или с независимыми образцами костных блоков ($n \geq 3$). Результаты приведены как средние значения со стандартным отклонением. Разница между средними значениями в экспериментальных группах была оценена с помощью GraphPadPrism 6.0 (США): однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с тестом Tukey для анализа независимых концентраций белка и значений pH; двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с тестом Sidak, для анализа парных значений pH; двухвыборочный t-тест в модификации Уэлча для всех сравнений жизнеспособности ММСК с контрольной группой; парный t-тест для результатов ПЦР. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Анализ данных гистоморфометрии проводили при помощи «MicrosoftExcel» из пакета «MicrosoftOffice 2003» с определением доверительного интервала для средней (по Р. Фишеру) и достоверности различий между изучаемыми группами (величина p). Различия считали достоверными при 95%-ном уровне значимости $p < 0,05$.

Способ изготовления костнопластического материала на основе аллогенной губчатой кости

Способ представляет собой очистку губчатой кости от органических компонентов (делипидизацию и депротеинизацию) и клеточных элементов (децеллюлизацию) применяя сочетание физического и химического воздействия на костную ткань. В основу технологии был взят принцип циклической очистки, в котором превалирует физического воздействие с минимальным химическим. Для изготовления была использована аллогенная губчатая кость от прижизненных доноров, взятых из головок бедренных костей, резецированных в ходе операции первичной тотальной артропластики тазобедренного сустава, и губчатая кость из мышечков бедренной и большеберцовой костей от доноров-трупов. 30 головок бедренных костей были выбраны в случайном порядке от прижизненных доноров, средний возраст составил 60,5 лет (возрастной диапазон 53–68 лет). Изъятие головок проходило согласно правилам забора, образцы погружали в двойной стерильный полиэтиленовый контейнер и

отправляли на хранение при температуре -80°C в морозильную камеру. Оттаивание проходило в течение 8 часов при комнатной температуре. Далее в стерильных условиях в боксе биологической безопасности ThermoFisherScientific MSC.9 головки очищали от мягких тканей и хряща, макроскопически оценивали участки с условно-здоровой губчатой костью, при помощи медицинской ручной пилы в стерильных условиях в ламинаре выпиливали кубовидные блоки со стороной ребра 5 мм. Подготовленные блоки погружали в физиологический раствор 400 мл + 1 г ципрофлоксацина и оставляли на 8 часов в холодильнике при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. После экспозиции в растворе антибиотика, блоки промывали в водяной шейкерной бане GFL 1083 (Германия) в течение 1 ч в дистиллированной воде, предварительно разогретой до 59°C . После чего выполняли промывку водой под давлением (гидродинамическая струя) в течение 15 мин. Далее циклическим способом проводили отмывку костных блоков от клеток и других органических компонентов до минерально-коллагенового матрикса. На первом цикле блоки промывали в водяной шейкерной бане 20 мин в 10% водном растворе гидрокарбоната натрия с последующей промывкой водой под давлением 15 мин, затем проводили отмывание образцов в ультразвуковой мойке Finnsonic-15170 ml15 (Финляндия) в 10% водном растворе гидрокарбоната натрия 20 мин при температуре 59°C при частоте 45 Гц и повторно выполняли промывку гидродинамической струей 15 мин. Затем блоки в 10% водном растворе гидрокарбоната натрия в орбитальном шейкере Biosan ES-20 (Латвия) 220 об/минуту в течение 15 мин. По завершению этапа промывки блоки 15 мин центрифугировали на центрифуге Thermo scientific Megafuge 16R (США) 1850 g, после чего измеряли количества белка в осадке на приборе QUBIT согласно инструкции производителя. На втором цикле использовали такую же последовательность этапов, но с отмывкой дистиллированной водой. По завершению цикла, измеряли концентрацию белка в осадочной жидкости. После пяти циклов концентрация белка составила $21 \pm 3,1$ мкг/мл. Далее выполняли очистку блоков 3% раствором перекиси водорода, предварительно разогретой до 57°C , в следующей последовательности: водяная шейкерная баня, ультразвуковая мойка, орбитальный шейкер 220 об/мин по 20 мин. Затем блоки промывали раствором этанола 70% при температуре 57°C последовательно: водяная шейкерная баня, ультразвуковая мойка, орбитальный шейкер 220 об/мин по 20 минут, 3-кратная инкубация по 15 мин в стерильной воде при температуре 59°C в орбитальном шейкере. Блоки высушивали в течение 2 часов в термостате BMT MMM group (Чехия) при температуре 45°C , после чего выполняли быструю заморозку (-80°C). Блоки лиофилизировали в сублимационной установке HETOPowerDryPL3000 (Дания), при отрицательном давлении с постепенным нагревом от -40 до $+40^{\circ}\text{C}$. Температуру повышали на $+20^{\circ}\text{C}$ каждые 8 ч, общее время составило 40 ч и включило в себя 5 эта-

пов нагрева по 8 ч. Далее блоки упаковывали в двойную полиэтиленовую упаковку «КЛИНИПАК» (Россия). Конечную стерилизацию ионизирующим излучением потоком быстрых электронов на радиационно-технологической установке с линейным ускорителем электронов УЭЛР-10-10-С2 дозой излучения 25 кГр.

Результаты и их обсуждение

Подтверждение фенотипа культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток

По результатам проточной цитофлуориметрии, доля клеток с типичным для ММСК фенотипом $CD90^+CD45^-$ составляла более 95% (рис. 1).

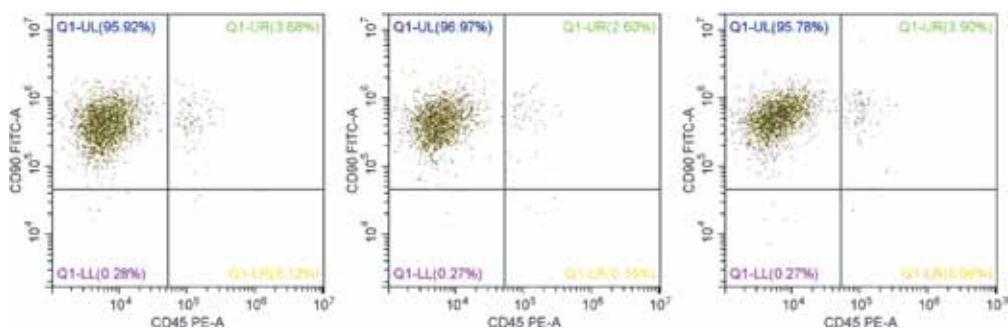


Рис. 1. Результаты подтверждения $CD90^+CD45^-$ фенотипа мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток с помощью проточной цитофлуориметрии

Способность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к хондрогенной и остеогенной дифференцировке

После 14 суток культивирования ММСК в остеогенной среде наблюдалось положительное окрашивание ализариновым красным, указывающее на отложение кальция в клеточном монослое. На 21 сутки хондрогенеза наблюдалось увеличение экспрессии ACAN в 5 раз, что свидетельствует о синтезе внеклеточного матрикса хондробластами (рис. 2).

Биохимические свойства экстракта костных блоков

Уровень белка в экстракте из костных блоков после термической обработки (ГС1) и в опытной образцах (ОГ) был в 4 раза ниже, чем в среде после химической стерилизации (КГ). Уровень pH экстракта во всех образцах показал щелочное состояние. В течение 24 ч инкубационного периода наблюдался сдвиг pH в щелочную сторону. Через 24 часа у ма-

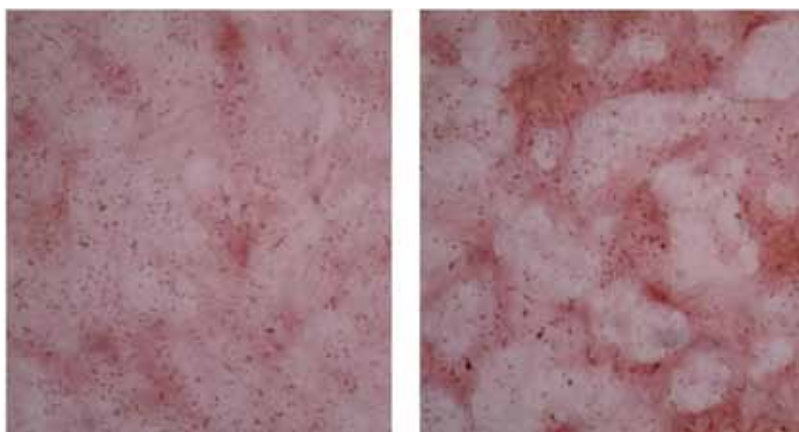


Рис. 2. Остеогенная дифференцировка мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток с окраской ализариновым красным на 14-й день. $\times 4$

териалов КГ рН экстракта был ниже по сравнению с группами ГС1 и ОГ (табл. 1).

Таблица 1

Биохимические свойства экстрактов костных блоков

Тип экстракта	рН			Концентрация белка, мкг/мл
	0 ч	24 ч	p	
Контрольная группа	$8,0 \pm 0,11$	$8,2 \pm 0,1^{***}$	$<0,01$	$164 \pm 20^{***}$
Первая группа сравнения	$8,5 \pm 0,04$	$8,6 \pm 0,02$	0,02	44 ± 23
Вторая группа сравнения	$8,4 \pm 0,03$	$8,6 \pm 0,02$	$<0,01$	40 ± 16
Контрольная среда	$8,5 \pm 0,04$	$8,9 \pm 0,07$	$<0,0001$	—

Примечание. Значения p относятся к сравнению уровня рН для каждого типа экстракта в начале эксперимента и через 24 ч; *** – $p < 0,0001$ относится к сравнению уровня рН и концентрации белка между типами экстрактов.

Влияние костного экстракта на жизнеспособность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток

Доля мертвых ММСК, выращенных в контрольной среде, была около 1%, тогда как в экстракте из блоков КГ она составляла 100%. В то же время доли мертвых ММСК, культивированных в экстрактах из костных блоков ГС1 и ОГ были схожи, но значительно ниже, чем у материалов после химической стерилизации. Доля жизнеспособных ММСК, культивированных в экстракте из блоков после химической стерилизации, была около нуля, тогда как в случае экстрактов из блоков после термической

стерилизации и опытных образцах она соответствовала контролю в обычной среде культивирования (рис. 3).

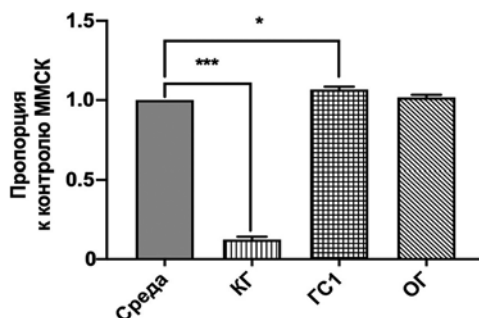


Рис. 3. Доля жизнеспособных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток через 72 часа культивирования в экстрактах костных блоков. *** – $p < 0,0001$; * – $p < 0,05$

Результаты сканирующей электронной микроскопии

Визуализация структур губчатого вещества костных блоков представлена на серии фотоизображений, полученных при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (рис. 4). На рис. 4 (а, б) представлены блоки группы КГ, микроархитектура соответствует нормальному строению губчатого вещества костной ткани, межтрабекулярные пространства свободны, на основании чего можно судить о степени очистки от органических компонентов, форма и поверхность трабекул гладкая без микротрещин и разрушений, пучки волокон коллагена без признаков разволокнения.

На рис. 4 (в, г) представлены блоки из группы ГС1, минерально-коллагеновый матрикс заполнен органическими компонентами костного мозга на рис. 4, в, признаков переломов трабекул нет, структура трабекулы правильная, оценить состояние пучков коллагеновых волокон нельзя из-за органического налета, покрывающего ее поверхность.

На рис. 4 (д, е), представлены материалы из опытной группы, микроархитектура также соответствует нормальному строению губчатого вещества костной ткани, межтрабекулярные пространства свободны. На структурах минерально-коллагенового матрикса определяются множественные трещины и участки разволокнения в пучках костного коллагена, микропереломы трабекул с частичной отслойкой.

На основании данных фотоизображений, полученных с помощью сканирующей электронной микроскопии, выполнена оценка микроархитектоники строения костного матрикса, определена степень очистки от органических компонентов.

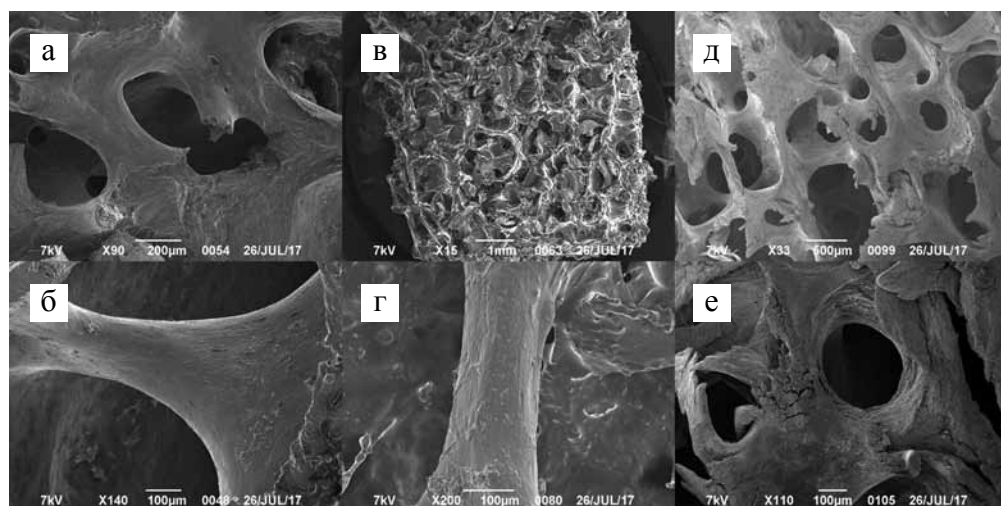


Рис. 4. Микрофотографии костных блоков: а, б – блоки контрольной группы; в, г – блоки первой группы сравнения; д, е – блоки опытной группы. Напыление золото–палладий. Контрольный штрих указан на рисунке

Результаты исследований гистоморфологических и гистоморфометрических изменений в зоне имплантации костнопластических материалов в динамике

Репаративные процессы в контрольной группе протекают достаточно интенсивно. Воспаление выражено на 7-е сутки, в последующие сроки не определялось. Остеогистогенез происходит без образования хрящевой «мозоли». Материал контрольной группы КГ подвергается остеоинтеграции к 90-м суткам эксперимента, процессы регенерации в зоне костной пластики практически завершаются и переходят в стадию длительной адаптивной перестройки регенерационного гистогенеза. Частично сохраняется имплантат, плотно встроенный в структуру новообразованной пластинчатой костной ткани. Нарастание доли костной ткани, подтверждается данными морфометрии (табл. 2).

Во второй группе сравнения на 7-е сутки, после костной пластики, определялись признаки воспаления, которые сохраняющиеся до 45-х суток наблюдения. Репарации зоны костной пластики протекает с образованием небольшого количества элементов хрящевой ткани. Сроки остеоинтеграции костнопластического материала, сходны данным контрольной группы. Доля гемопоэтических элементов и ангиогенез также сопоставимы. Таким образом, через на 90-е сутки после костной пластики регенерация определялись как завершенная с сохранявшимися фрагменты био-

Таблица 2

**Морфометрические показатели в зоне костной пластики
контрольной группы ($M \pm m$, объемная доля, %)**

Показатель, объемная доля (%)	Сроки эксперимента, сут ($M \pm m$)			
	7	21	45	90
Костная ткань	50,31 $\pm$ 1,72	61,37 $\pm$ 3,65	69,50 $\pm$ 2,49	76,57 $\pm$ 1,1
Соединительная ткань	42,16 $\pm$ 1,19	25,74 $\pm$ 3,15	11,39 $\pm$ 1,92	6,92 $\pm$ 1,68
Сосуды микроциркуляторного русла	1,37 $\pm$ 0,25	4,2 $\pm$ 2	4,98 $\pm$ 2,45	5,86 $\pm$ 0,17
Гемопозитический компонент	5,07 $\pm$ 0,29	7,4 $\pm$ 0,35	11,24 $\pm$ 1,14	13,27 $\pm$ 1,2

Таблица 3

**Морфометрические показатели в зоне костной пластики второй
группы сравнения ($M \pm m$, объемная доля, %)**

Показатель, объемная доля (%)	Сроки эксперимента, сут ($M \pm m$)			
	7	21	45	90
Костная ткань	49,37 $\pm$ 3,12	62,14 $\pm$ 2,18	70,21 $\pm$ 0,08	75,55 $\pm$ 2,01
Соединительная ткань	38,38 $\pm$ 1,93	25,28 $\pm$ 1,78	12,3 $\pm$ 1,95	7,96 $\pm$ 0,39
Сосуды микроциркуляторного русла	1,49 $\pm$ 1,2	4,01 $\pm$ 2,11	4,91 $\pm$ 1,91	5,45 $\pm$ 0,31
Гемопозитический компонент	4,88 $\pm$ 0,66	7,95 $\pm$ 1,3	14,08 $\pm$ 0,57	15,06 $\pm$ 0,1

резорбируемого имплантата. Данные гистоморфометрии представлены в табл. 3.

В целом, по результатам исследования процесса репарации в группе ГС1, установлено, что: в ранние сроки выявляется достаточное количество клеток лимфогистиоцитарного ряда; объемная доля костной ткани в динамике после костной пластики оказывается меньше, чем в группах КГ и ГС2 (табл. 4). Биоинтеграция не завершается к 90-м суткам эксперимента.

Исследование процесса репарации костного дефекта опытной группы показало, что результаты, полученные во всех изученных группах сопоставимы, но отличаются в сроках продолжения воспалительной реакции. Установлено, что объемы образованной костной становится практически одинаковым с контрольной группой (табл. 5). Биоинтеграция имплантата опытной группы полностью завершается к сроку 90 суток.

Таким образом, данные, полученные при морфометрии, показали, что, несмотря на восстановление кости как органа к концу срока исследования, методы обработки и стерилизации исследуемых костнопластических

Таблица 4

Морфометрические показатели в зоне костной пластики первой группы сравнения ($M \pm m$, объемная доля, %)

Показатель, объемная доля (%)	Сроки эксперимента, сут ($M \pm m$)			
	7	21	45	90
Костная ткань	48,52 $\pm$ 2,33	59,73 $\pm$ 3,17	67,42 $\pm$ 3,29	70,24 $\pm$ 3,07
Соединительная ткань	43,29 $\pm$ 3,74	25,91 $\pm$ 2,63	14,32 $\pm$ 3,03	7,76 $\pm$ 0,39
Сосуды микроциркуляторного русла	1,21 $\pm$ 0,31	4,01 $\pm$ 0,83	4,94 $\pm$ 2,8	5,04 $\pm$ 1,76
Гемопоэтический компонент	7,02 $\pm$ 0,12	8,91 $\pm$ 0,25	12,11 $\pm$ 1,7	12,71 $\pm$ 0,61

Таблица 5

Морфометрические показатели в зоне костной пластики опытной группы ($M \pm m$, объемная доля, %)

Показатель, объемная доля (%)	Сроки эксперимента, сут ($M \pm m$)			
	7	21	45	90
Костная ткань	51,21 $\pm$ 2,24	61,78 $\pm$ 3,08	71,19 $\pm$ 2,37	74,15 $\pm$ 1,23
Соединительная ткань	40,18 $\pm$ 2,17	22,19 $\pm$ 2,55	12,08 $\pm$ 2,11	7,97 $\pm$ 1,34
Сосуды микроциркуляторного русла	1,48 $\pm$ 0,3	4,47 $\pm$ 0,31	4,21 $\pm$ 1,19	5,01 $\pm$ 2,29
Гемопоэтический компонент	7,13 $\pm$ 0,27	9,76 $\pm$ 0,83	12,36 $\pm$ 1,29	12,2 $\pm$ 0,43

материалов оказывали влияние на течение процессы остеointеграции, ремоделирования и неоостеогенеза после пластики костного дефекта разными материалами.

Результаты исследований мультиспиральной компьютерной томографии

Представленные результаты МСКТ обеих групп на 7-е, 21-е, 45-е, 90-е сутки после костной пластики оценивались по визуальным данным, полученным в трех плоскостях: 1) аксиальной; 2) фронтальной; 3) сагитальной.

На 7-е сутки после костной пластики костнопластический материал во всех группах наблюдений равномерно распределен в зоне дефекта проксимального метаэпифиза, распространяясь по костномозговому каналу, размеры дефекта входного отверстия кортикальной пластинки 8 мм (рис. 5).

В первой группе сравнения содержимое дефекта неоднородно, структура костнопластического материала с очагами просветления по перифе-

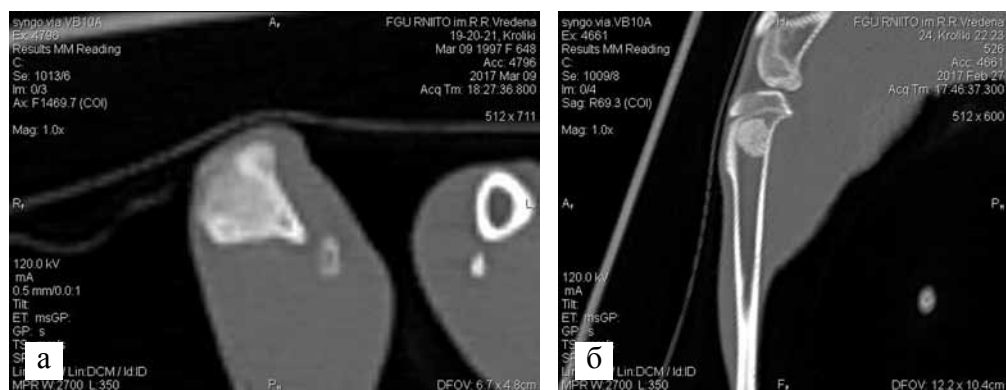


Рис. 5. Мультиспиральная компьютерная томография дефекта проксимального метаэпифиза большеберцовой кости кролика. Опытная группа, 7-е сутки наблюдения: а – аксиальная проекция; б – сагиттальная проекция

рии, отмечается остеобластическая реакция окружающей дефект костной ткани с тенденцией к отграничению. В опытной группе к 45-м суткам зона дефекта хорошо также хорошо визуализируется содержимое однородно, по контуру зоны реконструкции определяется очаги резорбции.

В группе ГС1 содержимое дефекта минимально неоднородно, структура костнопластического материала с очагами просветления, сохраняется тенденция к отграничению с оссификацией (рис. 6).



Рис. 6. Мультиспиральная компьютерная томография дефекта проксимального метаэпифиза большеберцовой кости кролика, сагиттальная проекция. Первая группа сравнения, 45-е сутки наблюдения

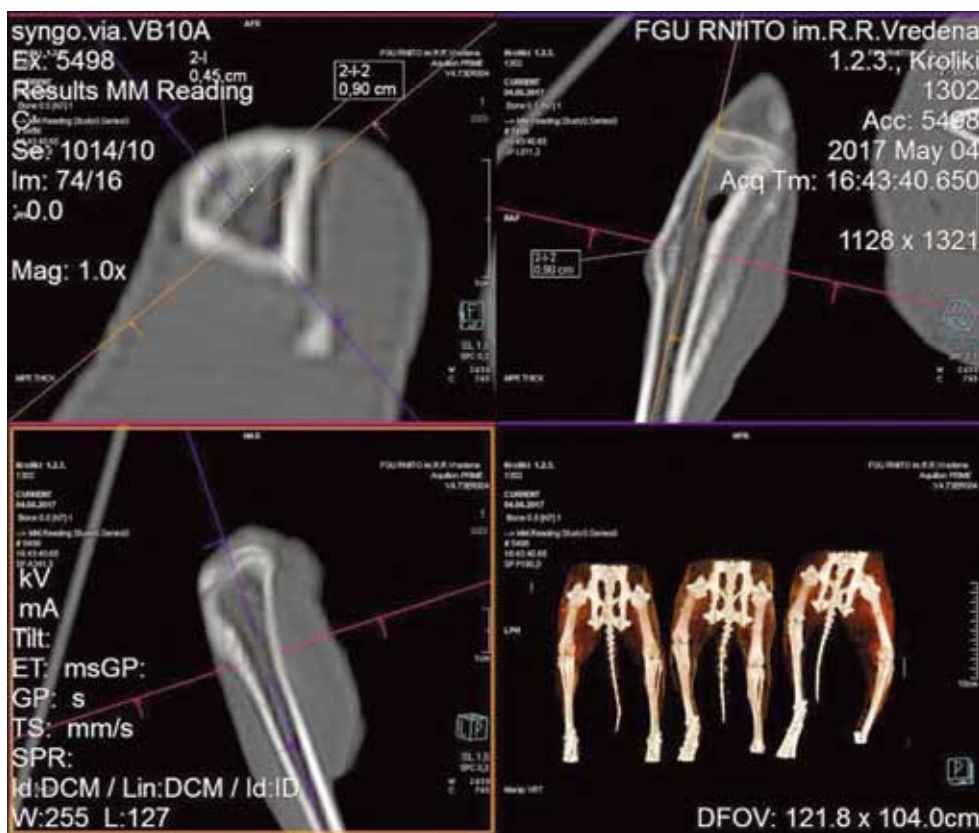


Рис. 7. Мультиспиральная компьютерная томография дефекта проксимального метаэпифиза большеберцовой кости кролика. Опытная группа, 90-е сутки наблюдения

На 90-е сутки после имплантации рентгенологическая картина в контрольной и опытной группах сопоставимы (рис. 7). Определяется резорбция костнопластического материала с зонами оссификаций и костных пластинок в центре дефекта, полное закрытие входного отверстия кортикальной пластинки, что может свидетельствовать о восстановлении кости как органа.

Таким образом, применение МСКТ для оценки процессов ремоделирования костнопластических материалов на основе кости в экспериментальной модели дефекта проксимального метаэпифиза большеберцовой кости кролика, является эффективным методом визуализации, позволяющим проводить прижизненную оценку исследуемых показателей в динамике. Испытания *in vivo* различных остеопластических материалов должно быть комплексным, поскольку метод МСКТ не заменяет, а дополняет гистоморфометрический анализ.

Заключение

Полученные в ходе исследования результаты позволяют сделать вывод, что методы обработки и стерилизации костной ткани, влияют на конечные свойства костнопластического материала. В результате, готовый для клинического применения имплантат может иметь разные свойства – биохимические, остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства, что впоследствии будет отражаться на скорости резорбирования, ремоделирования, остеointеграции и неоостеогенеза. Это свидетельствует о необходимости тщательного изучения свойств разрабатываемых костнопластических материалов перед их внедрением в клиническую практику.

Изготовленный по разработанному протоколу аллогенный костнопластический материал подтвердил биосовместимость, продемонстрировал функциональные свойства (остеоиндуктивность и остеогенность) и может быть рекомендован для последующей клинической апробации. Возможность использования его в качестве матрицы-носителя для разработки тканеинженерных конструкций, импрегнации антимикробными препаратами и модификации веществами, открывает дополнительные возможности для дальнейших исследований.

Выводы

1. Разработанный оригинальный способ децеллюляризации и делипидизации губчатой кости с использованием радиационной стерилизации позволил получить аллогенный костнопластический материал, обладающий высокими остеиндуктивными свойствами.
2. При исследовании *in vitro* методом колориметрического теста оценки метаболической активности клеток установлено, что образцы аллогенных костнопластических материалов не проявляют цитотоксический эффект.
3. При культивировании мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга с водными экстрактами из образцов аллогенных костнопластических материалов доказано, что разработанный способ обработки, как и термическая обработка нативной костной ткани, практически не влияют на исходный остеиндуктивный потенциал кости.
4. На экспериментальной модели полостных дефектов большеберцовой кости кролика показано отсутствие перифокальных реакций тканей после имплантации децеллюляризованных и делипидизированных по предложенному протоколу образцов, в отличие от способа децеллюляризации и делипидизации с использованием токсических химических веществ или метода термической обработки нативной костной ткани.

5. На модели реконструктивно-пластической операции костного дефекта большеберцовой кости кролика установлено, что методы обработки и стерилизации костной ткани существенно влияют на скорость и характер репаративного остеогенеза для имплантированных материалов.
6. Доказано, что процесс ремоделирования полученного по предложенному способу аллогенного костнопластического материала протекает через стадию «хрящевой мозоли» без признаков воспалительных реакций.

Практические рекомендации

1. Выбор материала для костной пластики зависит от его применения в конкретной клинической ситуации, при выборе материала необходимо учитывать его функциональные свойства, а также характеристики биodeградации.
2. При стерилизации материалов на заключительном этапе их изготовления радиационная доза поглощения должна быть 25 кГр, в этом случае гарантируется стерильность при сохранении функциональных свойств кости.
3. Полученный костнопластический материал является перспективным для дальнейшего использования в качестве скаффолда при разработке тканеинженерных конструкций.
4. Разработанный способ обработки и стерилизации костной ткани, дает возможность продолжить дальнейшую разработку по модификации и созданию аллогенных костнопластических материалов с дополнительными свойствами.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Воробьев К.А.** Предварительные результаты оценки ремоделирования костнозамещающих материалов по данным МСКТ в разные сроки после имплантации экспериментальным животным / К.А. Воробьев, И.В. Сушков, С.А. Божкова, Г.И. Нетылько, Д.В. Лабути́н // Сборник статей «Актуальные проблемы травматологии и ортопедии». – СПб., 2016. – С. 34–39.
2. Лабути́н Д.В. Влияние методов заготовки костнозамещающего материала на основе аллокости на биосовместимость с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (ММСК) / Д.В. Лабути́н, **К.А. Воробьев**, С.А. Божкова // Тезисы доклада на конференции. Сборник тезисов VII Всероссийского симпозиума с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». – Астрахань, 2017. – С. 20–22.
3. **Воробьев К.А.** Визуализация структур минерально-коллагенового матрикса губчатых костных аллоимплантатов методом сканирующей электронной микроскопии / **К.А. Воробьев**, С.А. Божкова, М.Н. Чепурненко // Сбор-

- ник статей «Новые горизонты травматологии и ортопедии», посвященный 150-летию со дня рождения Р.Р. Вредена. – СПб., 2017. – С. 46–50.
4. Тихилов Р.М. Вопросы стандартизации и нормативно-правового регулирования при работе с головками бедренных костей прижизненных доноров / Р.М. Тихилов, А.С. Самойлов, С.А. Божкова, Т.А. Астрелина, К.К. Губарев, **К.А. Воробьев** // Статья в журнале (материалы конференции) «Вестник трансплантологии и искусственных органов». – 2017. – Т. 19. – № S. – С. 30.
5. **Воробьев К.А.** Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы) / **К.А. Воробьев**, С.А. Божкова, Р.М. Тихилов [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23. – № 3. – С. 134–147.
6. Трушников В.В. Сравнительная характеристика процесса ремоделирования зоны костного дефекта костнопластическими материалами разных способов заготовки / В.В. Трушников, Л.И. Анисимова, **К.А. Воробьев**, С.А. Божкова, Г.И. Нетылько // Современные достижения травматологии и ортопедии. Сборник научных статей ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» МЗ РФ. – 2018. – С. 248–251.
7. Тихилов Р.М. Вопросы организации и нормативно-правового регулирования костных банков в Российской Федерации / Р.М. Тихилов, **К.А. Воробьев**, С.А. Божкова, С.В. Готье, С.М. Хомяков // Тезисы доклада конференции. Материалы всероссийской научной конференции «Современные проблемы гистологии и патологии скелетных тканей». – 2018. – С. 81–83.
8. **Воробьев К.А.** Особенности остеоинтеграции ремоделирования костных графтов, обработанных методом циклической очистки и стерилизованных радиацией, в эксперименте *in vivo* / **К.А. Воробьев**, Д.А. Лабути́н, Л.И. Анисимова // Тезисы доклада на конференции «Вестник трансплантологии и искусственных органов». – 2018. – Т. 20. – № S1. – С. 153.
9. **Vorobyov K.** Bone Grafts prepared with multi-stage cyclic washing and sterilization by gamma-irradiation increase bone remodeling in a rabbit tibial defect model. 19th EFORT Congress 2018. Barcelona, Spain.
10. Labutin, D. Human bone graft cytocompatibility with mesenchymal stromal cells is comparable after thermal sterilization and washing followed by γ -irradiation: an *in vitro* study / D. Labutin, **K. Vorobyov**, S Bozhkova, E. Polyakova, T. Vodopyanova // Regen Biomater. – 2018. – V. 5. – № 2. – P. 85–92.
11. **Воробьев К.А.** Влияние методов заготовки костнопластического материала на процессы ремоделирования в модели костного дефекта в эксперименте *in vivo* / **К.А. Воробьев**, С.А. Божкова, Л.И. Анисимова [и др.] // Практическая медицина. – 2019. – Т. 17. – № 1. – С. 93–96.
12. Эрхова Л.В. Сверхкритическая обработка ксеногенного костного матрикса в процессе изготовления имплантатов для остеосинтеза / Л.В. Эрхова, Ю.М. Панов, Н.С. Гаврюшенко, В.В. Зайцев, Ю.С. Лукина, Д.В. Смоленцев, **К.А. Воробьев**, Д.П. Крутько, Д.А. Леменовский // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2019. – Т. 14. – № 4. – С. 42–48.

13. **Воробьев К.А.** Аутологичные стимуляторы регенерации при имплантации аллогенных костнопластических материалов (клинический случай) / **К.А. Воробьев**, Т.О. Скипенко, Н.В. Загородний, В.И. Севастьянов, Д.В. Смоленцев, А.Р. Закирова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 4. – С. 134–140.

Патенты

1. Патент РФ № 2715238 МПК А61К 35/32 (2015.01), А61F2/28 (2006.01); СПК А61К 35/32 (2020.01), А61F2/28 (2020.01) Способ изготовления аллогенного костнозамещающего материала / Божкова С.А., **Воробьев К.А.**, Лабушин Д.А.; заявитель и патентообладатель ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава РФ. – № 2019123516; заявл. 19.07.2019; опубл. 26.02.2020. бюл. № 6. – с. 9.

Список сокращений

Гц	– герц
ДМСО	– диметилсульфоксид
кГр	– килогрей
КМ	– костный мозг
ММСК	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки
Мпа	– мегапаскаль
ОЭ	– оксид этилена
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
СКФ	– сверхкритический флюид
ск-СО ₂	– сверхкритический диоксид углерода
AATB (American Association of Tissue Banks)	– ассоциация тканевых банков соединенных штатов Америки
APASTB (Asia Pacific Association of Surgical Tissue Banking)	– Азиатско-тихоокеанская ассоциация тканевых банков
ASMBR (American Society for Bone and Mineral Research)	– Американское общество исследования костного и минерального обмена
ATBF (Australian Tissue Banking Forum)	– Австралийский форум тканевых банков
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)	– среда Игла в модификации Дульбекко

EATB (European Association of Tissue Banks)	– Европейская ассоциация тканевых банков
EUROCET (European Registry for Organs, Tissues and Cells)	– европейский регистр органов, тканей и клеток
FDA (Food and Drug Administration)	– Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов
NJR (National Joint Registry)	– национальный регистр суставов
SAL (sterility assurance level)	– уровень гарантии стерильности

ИНТЕРВЕНЦИОННЫЕ МЕТОДЫ КОРРЕКЦИИ СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И БИЛИОДИГЕСТИВНЫХ СТРИКТУР ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ

Восканов М.А., 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

Сосудистые осложнения редкие, но довольно серьезные причины потери печеночного трансплантата и летального исхода [Sieders E., 2000; Porrett P.M. 2009, Carnevale F.C., 2011]. Кровотечение, стеноз и тромбоз могут возникнуть при любом типе сосудистого анастомоза. Риск таких осложнений около 8–15% у взрослых [Perez-Saborido B., 2011]. Дети же подвержены более высокому риску развития пост-трансплантационных сосудистых осложнений [Hardikar W., 2010]. Уровень заболеваемости может достигать 25% [Hardikar W., 2010].

Однако благодаря развитию в последние два десятилетия хирургической техники и медикаментозной профилактики уровень заболеваемости удалось значительно снизить. Стеноз портальной вены и стеноз печеночной артерии встречается в 4–8 и 11–20% педиатрических реципиентов трансплантата печени. Реваскуляризация кровотока должна быть выполнена незамедлительно, особенно в случае полного тромбоза печеночной артерии или портальной вены. При таких осложнениях в результате нарушения печеночного кровотока может произойти ранняя потеря трансплантата, длительно текущая дисфункция трансплантата или даже смерть пациента [Duffy J.P., 2009].

Билиарные осложнения являются основной причиной заболеваемости после трансплантации печени, и на протяжении десятилетий считались «ахиллесовой пятой» этой операции. Более того, осложнения желчевыводящих путей более часты после трансплантаций печени от родственного донора, что представляет особую проблему для лечения в педиатрической популяции [Wan P., 2014].

Чрескожная чреспеченочная холангиография играет решающую роль в диагностике желчной стриктуры у детей – реципиентов печени, поскольку она считается золотым стандартом для выявления и количественной оценки стеноза [Seehofer D., 2013]. Чрескожный доступ также позволяет лечить этих пациентов путем прерывистой дилатации и дренирования желчных протоков.

В соответствии с рекомендациями Американской ассоциации по изучению заболеваний печени и Американского общества трансплантологии в 2013 году, [Kelly D.A., 2013] предлагается регулярно и рутинно проводить скрининг и обнаружение поздних хирургических осложнений. Хирургические осложнения, такие как тромбоз печеночной артерии, стеноз воротной вены и билиодигестивные стриктуры, оптимально диагностируются и лечатся в трансплантологическом центре, однако нет единого мнения относительно сроков, продолжительности мониторинга и тактики лечения этих осложнений.

Цель исследования

Разработать диагностические алгоритмы и усовершенствовать методы выполнения интервенционных малоинвазивных коррекций хирургических осложнений после трансплантации печени у детей.

Задачи исследования

Стандартизировать хирургическую технику интервенционных коррекций нарушений артериального кровотока трансплантата печени у детей.

Оценить последствия нарушения артериального кровотока для пациента и трансплантата, а также анализировать выживаемость в группах не-окклюзирующих и окклюзирующих нарушений артериального кровотока печеночного трансплантата.

Оптимизировать хирургическую технику интервенционных коррекций нарушений портального кровотока трансплантата печени у детей.

Провести анализ факторов риска развития билиодигестивной стриктуры после трансплантации печени у детей.

Разработать алгоритм эндобилиарного лечения билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей.

Научная новизна

Впервые использован комплекс методик малоинвазивной коррекции хирургических осложнений в педиатрической трансплантации печени, таких как тромбоз и стеноз артерии трансплантата, стеноз воротной вены и билиодигестивная стриктура после трансплантации печени у детей.

Разработан и внедрен в практику алгоритм лечения билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей с использованием программных замен наружно-внутренних билиарных дренажей.

Новыми являются данные результатов оценки функции трансплантатов печени у детей после выполнения интервенционных методик коррекции хирургических осложнений.

Теоретическая и практическая значимость

На основании результатов исследования сформулирован алгоритм скрининга, ранней диагностики и методики проведения малоинвазивных коррекций стеноза и тромбоза печеночной артерии, стеноза воротной вены и билиодигестивной стриктуры в практике педиатрической трансплантации печени, оценка эффективности интервенционных технологий.

Разработаны практические рекомендации по проведению диагностики и лечения хирургических осложнений после трансплантации печени у детей, таких как стеноз и тромбоз печеночной артерии, стеноз воротной вены и билиодигестивная стриктура.

Внедрение данных научных разработок в клиническую практику позволит избежать травматических реконструктивных операций и обеспечить нормальное функционирование трансплантата печени в короткие сроки.

Методология и методы исследования

В исследование включены клинические данные пациентов, данных общих клинических анализов крови, биохимических анализов крови, коагулограмм, а также результаты проведенных инструментальных исследований, таких как ультразвуковое исследование, мультиспиральная компьютерная томография с внутривенным контрастным усилением, магнитно-резонансная томография, а также ангиография до проведения и после проведения малоинвазивных коррекций хирургических осложнений после трансплантации печени у детей.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Ранняя диагностика сосудистых осложнений, а также своевременное применение малоинвазивных интервенционных эндоваскулярных технологий позволяют в кратчайшие сроки восстановить кровоснабжение трансплантата печени у детей при таких осложнениях как, тромбоз и стеноз артерии трансплантата.
2. Применение малоинвазивных интервенционных эндоваскулярных технологий при стенозе воротной вены трансплантата печени у детей позволяет избежать открытых вмешательств, нормализовать

портальный кровоток, избежать развития синдрома портальной гипертензии, и как следствие избежать желудочно-кишечных кровотечений у реципиентов печени в педиатрической практике.

3. Малоинвазивные эндобилиарные вмешательства позволяют скорректировать билиодигестивную стриктуру у реципиентов печени, избежать крупных реконструктивных вмешательств, восстановить в короткие сроки и продлить функцию пересаженного органа.
4. Малоинвазивные интервенционные методы коррекции сосудистых осложнений и билиодигестивных стриктур после трансплантации печени, которые широко используются в практике у взрослых реципиентов, могут быть использованы и у реципиентов печени детского возраста с достижением высоких результатов.

Степень достоверности и апробации результатов

Достоверность полученных результатов определяется объемом проведенных исследований (61 пациент после проведения малоинвазивных коррекций хирургических осложнений) с применением современных лабораторно-инструментальных методов исследования и статистической обработки.

Апробация работы состоялась 15.07.2020 года на объединенной научной конференции клинических, экспериментальных отделений и лабораторий Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и 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).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на (конференции):

- 27 Международном конгрессе общества трансплантологов (TTS) (Мадрид, Испания, 2018 г.),
- IX Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, Россия, 2018 г.),
- 19 Международном конгрессе Европейского общества трансплантологов (ESOT) (Копенгаген, Дания, 2019 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практическую работу хирургического отделения № 2 (педиатрической трансплантации), отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в практическую работу отделения пересадки печени Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», а также в образовательную программу 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).

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции и постановке задач исследования; принимал участие в диагностике и проведении малоинвазивных коррекций хирургических осложнений у детей после трансплантации печени, ведении пациентов после проведенных манипуляций, самостоятельно осуществлял сбор материалов для исследования. Автором самостоятельно сформирована база данных, проведены статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

Публикации по теме диссертации

По материалам исследования опубликованы 19 научных работ, из них 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 работа в зарубежной печати.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики клинических наблюдений и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, 6 выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 14 отечественных и 163 зарубежных источника. Работа изложена на 109 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 таблицами и 11 рисунками.

Материалы и методы исследования

С мая 2015-го по май 2020 г. в ФГБУ «НМИЦ ТИО им ак. В.И. Шумакова» Минздрава России было выполнено 440 трансплантаций печени детям. Из них трансплантации детям от посмертных доноров были проведены в 73 (16,6%) случаях, трансплантации фрагментов печени от родственных доноров были выполнены в 367 (83,4%) случаях. У 34 (7,7%) детей были диагностированы СПА или ТПА, у 8 (2%) детей были диагностированы СВВ, и у 19 (4,3%) пациентов диагностированы БС в разные сроки после трансплантации. Данные пациенты были включены в настоящее исследование.

Количественные переменные выражены в среднем значении и стандартном отклонении, качественные переменные в числах и процентах. Для параметрических (количественных) данных для оценки статистической значимости использовался t-критерий Стьюдента, Для непараметрических данных для оценки статистической значимости использовался U-критерий Манна–Уитни, и для сравнения групп «неокклюзирующее артериальное поражение» и «окклюзирующее артериальное поражение», в связи с малым объемом выборки, для оценки статистической значимости использовали точный критерий Фишера. При проверке гипотез различия признавали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Все расчеты и анализ данных выполняли с применением пакета программ SPSS v.23 (IBM, США).

Интервенционные методы коррекции стеноза и/или тромбоза артерии трансплантата печени

В нашей практике все интервенционные методы коррекции СПА и/или ТПА, а также синдромов артериального «обкрадывания» печеночного трансплантата осуществлялись трансфеморальным доступом. Через указанный доступ выполнялась диагностическая целиакография (аппарат Philips Allura Xper FD 20 OR Table, Нидерланды и Shimadzu Bransist alexa, Япония) с использованием диагностических катетеров и контрастного препарата (Ультравист 370, Оптирей 350 в разведении со стерильным физ. раствором 1 : 4). Вводился болюс гепарина (в расчете на вес ребенка) для достижения АСТ >220 секунд.

Затем выполнялась серия ангиографических исследований в различных проекциях. На данном этапе выполнялась качественная и количественная оценка артериального поражения и его дифференциальная диагностика. Выполнялась баллонная ангиопластика. Процедура была повторена, если последующие изображения показывали признаки рецидивирующего СПА или окклюзии.

В случаях малой эффективности БА выполнялось стентирование печеночной артерии (рис. 1).

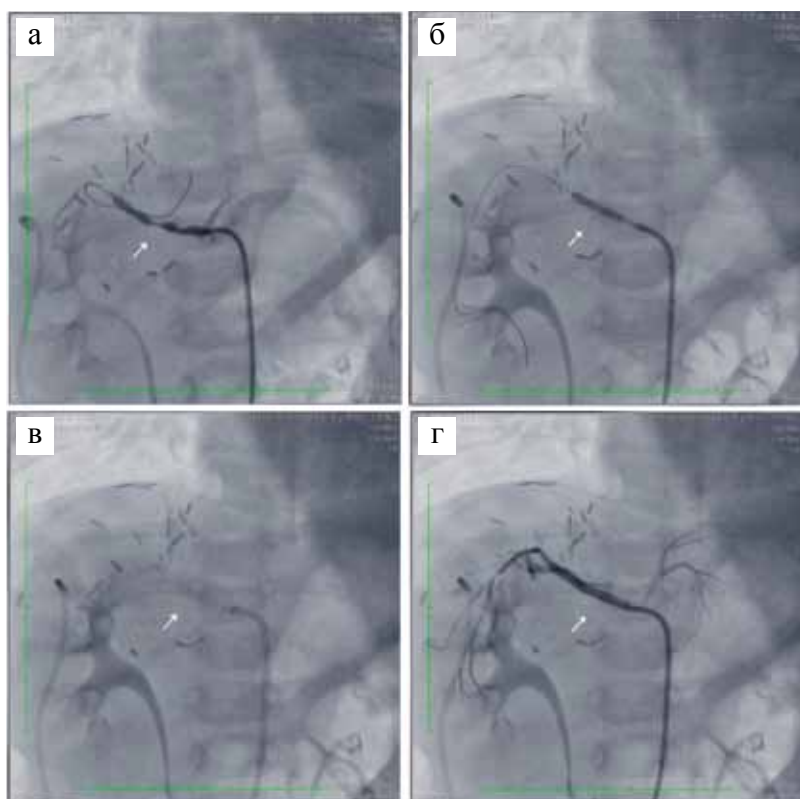


Рис. 1. Этапы стентирования печеночной артерии трансплантата:
а – ангиография печеночной артерии, локализация стеноза;
б – баллонная ангиопластика области стеноза печеночной артерии трансплантата;
в – стент установлен в области стеноза печеночной артерии трансплантата;
г – доплерография печеночной артерии после вмешательства, кровотоки полностью восстановлены

После выполнения коррекции осложнения пациентам выполнялась контрольная ангиография, а также контрольная доплерография с целью оценки характеристик артериального кровотока (рис. 2).

Синдром артериального «обкрадывания» печеночного трансплантата устанавливался по наличию диагностических критериев: увеличенная селезеночная артерия по данным ангиографии ($\geq 150\%$ диаметра печеночной артерии), а также гемодинамические изменения, указывающие на гипоперфузию трансплантата: ранняя перфузия селезеночной артерии, связанная с отсроченной и ослабленной перфузией печеночной артерии или позднее заполнение внутрипеченочных артериальных ветвей (рис. 3). В таких случаях выполнялась селективная эмболизация селезеночной артерии микроэмболами.

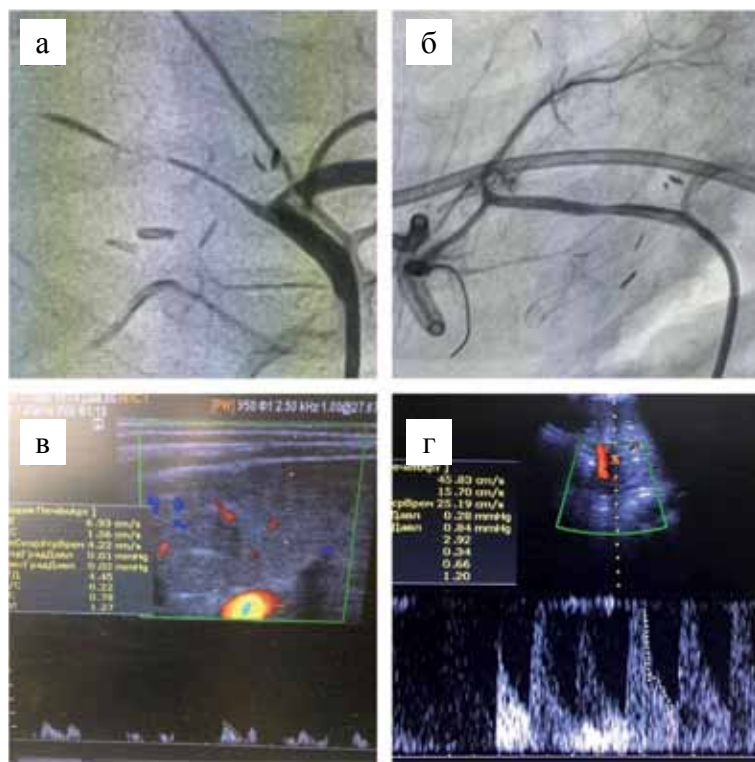


Рис. 2. Контрольные исследования после интервенционной коррекции стеноза печеночной артерии трансплантата:
 а – ангиография печеночной артерии до вмешательства;
 б – доплерография печеночной артерии до вмешательства;
 в – ангиография печеночной артерии после вмешательства;
 г – доплерография печеночной артерии после вмешательства



Рис. 3. Синдром артериального «обкрадывания» печеночного трансплантата:
 1 – редуцированный артериальный приток по печеночной артерии трансплантата; 2 – увеличенная селезеночная артерия

Всем пациентам после вмешательства назначалась перманентная гепаринизация под контролем АЧТВ, а также выполнялся ультразвуковой контроль по разработанному алгоритму.

Интервенционные методы коррекции стеноза воротной вены после трансплантации печени у детей

Мы использовали две различные техники интервенционной коррекции СВВ: антеградный подход ($n = 2$), через систему брыжеечных вен, из минилапаротомного доступа, и ретроградный подход ($n = 6$), когда доступ к стенозу осуществляется путем пункции ветвей воротной вены в трансплантате печени под ультразвуковым контролем. В случаях чреспеченочного доступа (ретроградного), внутripеченочная ветвь воротной вены пунктировалась с использованием иглы Chiba (Cook, Bloomington, Indiana) под ультразвуковым контролем. ветвь портальной вены устанавливался диагностический катетер. Баллонная ангиопластика выполнялась до тех пор, пока не исчезала деформация талии баллонного катетера. Раздутие каждого баллона продолжалась в течение 60 с при 2–3 процедурах накачивания (рис. 4).

Стентирование выполнялось, если ангиография показывала стойкую к БА деформацию. Использовались саморасширяющийся стенты с диаметром равным или на 1–2 мм больше, чем у предстенотического участка воротной вены.

Трансмезентериальный (антеградный) доступ выполнялся в условиях рентгеноперационной. После выполнения нижнесрединной лапаротомии



Рис. 4. Этапы баллонной ангиопластики воротной вены печеночного трансплантата: а – пункция и контрастирование системы воротной вены трансплантата печени, локализация области стеноза; б – баллонная ангиопластика воротной вены трансплантата печени; в – контрольная портография, разрешение стеноза

выполнялась мобилизация нижней брыжеечной вены. Затем 0,035-дюймовый проводник был заведен в нижнюю брыжеечную вену после венотомии или пункции. Диагностический катетер заводился в внутripеченочную часть воротной вены. После этого ангиопластику проводили по той же методике, которая описана для чрескожного чреспеченочного доступа.

Интервенционные методы коррекции билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей

Чрескожная пункция осуществлялась в условиях рентгеноперационной (аппарат Philips Allura Xper FD 20 OR Table, Нидерланды и Shimadzu Bransist alexa, Япония), под ультразвуковой навигацией, иглой Chiba 18 Ga (рис. 5).

При поступлении желчи вводилось небольшое количество водорастворимого контраста (Ультравист 370, Оптирей 350 в разведении со стерильным физ. раствором 1 : 4) для подтверждения локации. Затем заводился проводник, игла Chiba заменялась на интродьюсер (Terumo Radifocus Introducer II 4 Fr, 5 Fr, 6F) и с использованием различных катетеров (Merit Medical Performa CB1 5F, США, Merit medical Performa KA2 4-5F, США, Terumo Radifocus Optitorque radial TIG II 3,5 5F, Япония) и диагностических проводников (Asahi intecc UniQual Slip-Coat Guidewire 0,035", Biometrix Angio-Line guidewire 0,35"), а также коронарных проводников (Asahi intecc Prowaterflex 0.014", Япония; Asahi intecc Fielder 0,014", Япония; Boston Scientific PT2 LS 0.014" США) выполняли прохождения стриктуры.



Рис. 5. Пункция желчных протоков печеночного трансплантата под ультразвуковой навигацией

В случае успешного прохождения стриктуры с признаками попадания проводника и контрастного вещества в петлю кишки, по проводнику устанавливали дренаж Доусона–Мюллера (Cook Medical, США) диаметром 8,5 Fr с дополнительно сформированными 2–3 отверстиями. При невозможности проведения дренажа из-за выраженных стриктур выполняли баллонную дилатацию баллонными катетерами (Medtronic Sprinter Legend RX d – 1,25 мм l – 10–12 мм; d – 1,5 мм l – 12–15 мм; d – 2,0 мм l – 15–20 мм, США).

Дистальную петлю устанавливали в кишке с помощью встроенного в дренаж фиксирующего механизма (рис. 6).

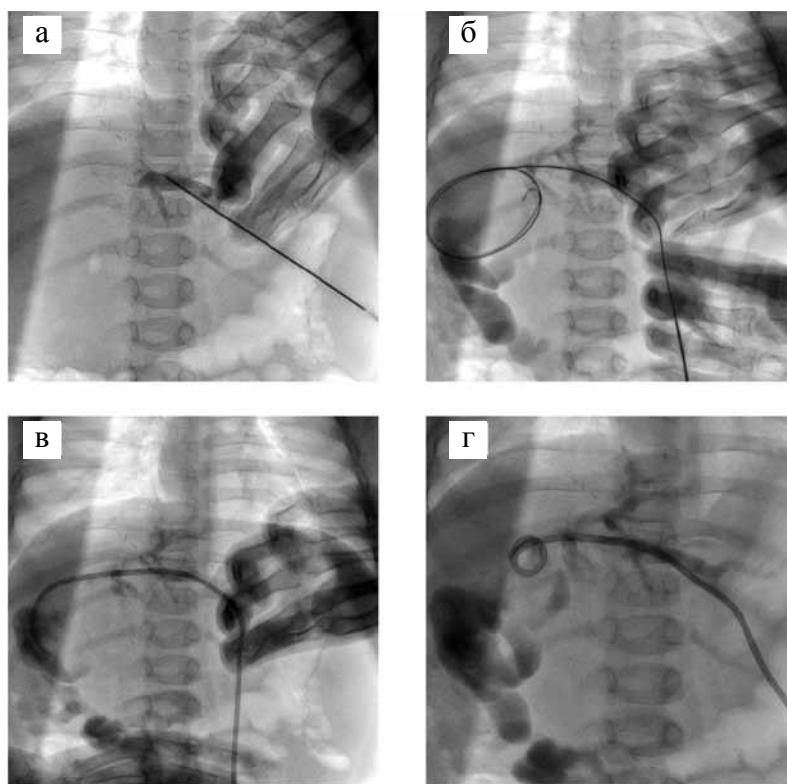


Рис. 6. Этапы наружно-внутреннего дренирования желчных протоков печеночного трансплантата: а – пункция и контрастирование желчных протоков трансплантата печени; б – проводник заведен через стриктуры в выключенную по Ру петлю тонкой кишки; в – дренаж заведен по проводнику через стриктуру; г – выполнена фиксация дренажа (кончик дренажа с помощью системы фиксации Mac-loc закручен в спираль, так называемый Pigtail (англ. свиной хвостик))

Наружное желчеотведение сохранялось до 3 послеоперационных суток, с целью профилактики реактивного холангита.

При отсутствии признаков холангита дренаж перекрывался.

В последующем кратные замены холангиостомического дренажа проводились раз в 3 месяца на аналогичные большего диаметра. По достижении максимального диаметра, выполнялась контрольная билиография, в область билиодигестивного анастомоза заводился баллон для ангиопластики диаметром 5–7 мм и осуществлялся контроль отсутствия «тали» на баллоне при его раздутии. Затем выполнялось удаление дренажа.

Результаты исследования

Характеристика клинических результатов интервенционных методов коррекции нарушений артериального кровотока после трансплантации печени у детей

В наше исследование были включены дети ($n = 34$), у которых развились такие артериальные осложнения как СПА ($n = 11$), ТПА ($n = 17$), а также синдром артериального «обкрадывания» печеночного трансплантата ($n = 6$), в различные сроки после трансплантации печени (от 1 дня до 6,5 месяцев). В исследуемой группе 17 (50%) мальчиков и 17 (50%) девочек, в возрасте от 4 до 216 месяцев ($75,8 \pm 69$), с массой тела от 6 до 46 кг (19 ± 13). Диагнозы пациенты были представлены следующими заболеваниями: билиарная атрезия: 10 (29,4%), билиарная гипоплазия: 3 (8,9%), болезнь Байлера: 5 (14,7%), цирроз печени неуточненной этиологии: 5 (14,7%), цирроз печени, ассоциированные с муковисцидозом: 3 (8,9%), аутоиммунный гепатит: 3 (8,9%), синдром Кароли: 2 (5,8%), цирроз печени, ассоциированные с гистиоцитозом из клеток Лангерганса: 1 (2,9%), первичный склерозирующий холангит: 1 (2,9%). Значение PELD пациентов составило от 0 до 36 баллов.

Медиана времени возникновения вышеуказанных артериальных осложнений после трансплантации печени составила 8,5 дней (1–192).

В 8 (23,5%) случаях была выполнена БА, в 18 (53%) случаях стентирование печеночной артерии, селективная эмболизация селезеночной артерии в 6 (17,6%) случаях, а также комбинированные коррекции ангиопластика печеночной артерии в сочетании с селективной эмболизацией селезеночной артерии в 2 (5,9%) случаях. Во всех случаях кровоток был восстановлен.

В 4 (11,8%) случаях из 34, у пациентов с ТПА, возник рецидив, потребовавший повторного эндоваскулярного вмешательства. Успешный результат был достигнут в 3 (75%) случаях из 4. В 1 случае ТПА рецидивировал снова, что потребовало еще одного повторного эндоваскулярного вмешательства.

Ни в одном случае не возникло хирургических осложнений во время выполнения интервенционного вмешательства.

Анализ окклюдизирующих артериальных поражений и неокклюдизирующих артериальных поражений

Всех пациентов с артериальными осложнениями мы разделили на 2 группы: окклюдизирующие и неокклюдизирующие артериальные нарушения кровотока печеночного трансплантата. Мы провели анализ этих 2 групп артериальных поражений (табл. 1).

Таблица 1

Анализ групп неокклюдизирующих и окклюдизирующих артериальных поражений

Параметры	Неокклюдизирующие поражения (n = 17)	Окклюдизирующие поражения (n = 17)	Значение p
Возраст, месяцы (ср. знач. ± станд. откл.)	75,8 ± 69	34,7 ± 54	0,06
Пол, n (%)			
Женский	6 (35,3%)	10 (58,8%)	0,30
Мужской	11 (64,7%)	7 (41,2%)	
Масса тела, кг (ср. знач. ± станд. откл.)	19 ± 13	12,9 ± 11,1	0,15
Шкала PELD, баллы (ср. знач. ± станд. откл.)	15 ± 8,4	21,8 ± 9,3	0,03
GRWR (ср. знач. ± станд. откл.)	2,6 ± 1	3 ± 1,4	0,35
Тип трансплантата, n (%)			
Левый латеральный сектор	10 (58,8%)	15 (88,2%)	0,11
Левая доля	4 (23,5%)	1 (5,9%)	0,17
Правая доля	2 (11,8%)	1 (5,9%)	0,75
Целая печень	1 (5,9%)	—	0,50
Билиарные осложнения, n (%)			
Желчный свищ (ISGLS Grade B)	2 (11,8%)	2 (11,8%)	0,67
Желчный свищ (ISGLS Grade C)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	0,75
Неанастомотическая билиарная стриктура	1 (5,9%)	4 (23,5%)	0,33
Анастомотическая билиарная стриктура	1 (5,9%)	—	0,50
Инфекционные осложнения, n (%)			
Абсцедирование трансплантата печени	1 (5,9%)	5 (29,4%)	0,08
Сепсис	—	4 (23,5%)	0,05

Окончание табл. 1

	Неокклюзирующие поражения (n = 17)	Окклюзирующие поражения (n = 17)	Значение p
Потеря трансплантата или смерть пациента, n (%)	–	5 (29,4%)	0,02
Период наблюдения, месяцы (ср. знач. ± станд. откл.)	14,1 ± 12	16,6 ± 15,5	0,60

По полученным данным статистически достоверная разница выявлена в возрасте пациентов ($p = 0,06$), а также в баллах шкалы PELD ($p = 0,03$). По прочим базовым характеристикам статистически достоверной разницы выявлено не было. Также статистически достоверной разницы не было выявлено среди показателей билиарных осложнений, а также инфекционных осложнений. Однако в группе окклюзирующих артериальных поражений статически достоверно выше был показатель потеря трансплантата или смерть пациента ($p = 0,02$).

Выполнен анализ выживаемости, построенный по методу Каплана–Майера (рис. 7), между группами неокклюзирующих артериальных поражений и окклюзирующих артериальных поражений.

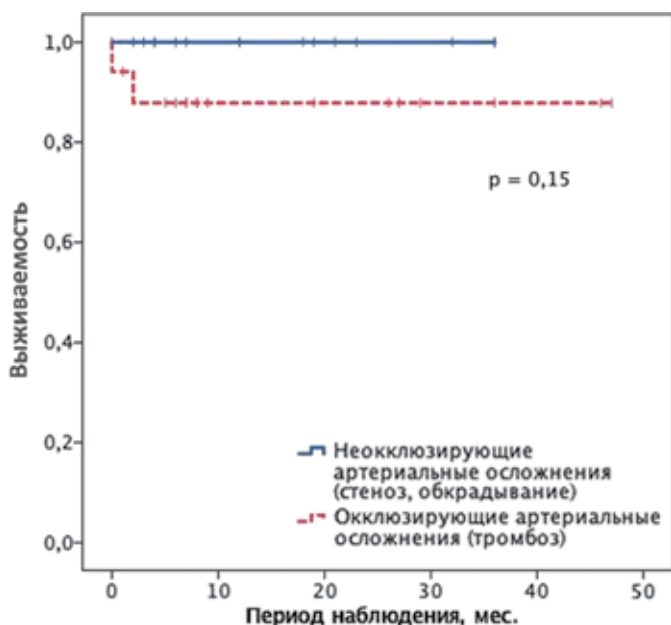


Рис. 7. Общая выживаемость реципиентов в группе с неокклюзирующими артериальными поражениями и окклюзирующими артериальными поражениями

Анализ выживаемости, построенный по методу Каплана–Майера, демонстрирует отсутствие статистически достоверной разницы по летальному исходу между представленными группами. Данную закономерность обуславливает успешное и своевременное выполнение ретрансплантаций в нашем центре детям в группе с окклюзирующими артериальными поражениями. В группе неокклюзирующих артериальных поражений 1-летняя выживаемость и 3-летняя выживаемость составила 100 и 100% соответственно. В группе окклюзирующих артериальных поражений 1-летняя выживаемость и 3-летняя выживаемость составила 87,8 и 87,8% соответственно.

Характеристика клинических результатов интервенционных методов коррекции стеноза воротной вены после трансплантации печени у детей

В эту группу были включены дети ($n = 8$), у которых развился СВВ, 6 (75%) мальчиков и 2 (25%) девочки, в возрасте от 4 до 108 месяцев ($20,6 \pm 35,4$), с массой тела от 5,3 до 20 кг ($8,9 \pm 4,6$), в различные сроки после трансплантации печени (от 4 месяцев до 6 лет). Диагнозы пациенты были представлены следующими заболеваниями: билиарная атрезия: 4 (50%), билиарная гипоплазия: 2 (25%), аутоиммунный гепатит: 1 (12,5%), синдром Аладжиля: 1 (12,5%). Значение PELD пациентов составило от 0 до 28 баллов. В качестве трансплантата использовались левый латеральный сектор печени (ЛЛС) в 7 (87,5%) случаях (родственная ортотопическая трансплантация ЛЛС во всех случаях) и целая печень в 1 (12,5%) случае.

В качестве трансплантата использовались левый латеральный сектор печени (ЛЛС) в 7 (87,5%) случаях (родственная ортотопическая трансплантация ЛЛС во всех случаях) и целая печень в 1 (12,5%) случае. Во всех случаях СВВ был установлен по данным МСКТ с контрастным усилением. Медиана времени возникновения СВВ после трансплантации печени составила 15 месяцев (4–72).

В 2 (25%) случаях пациентам была выполнена БА, в 6 (75%) случаях стентирование воротной вены. Во всех случаях была достигнута успешная коррекция осложнения и нормализация характеристик портального кровотока.

В случаях подтвержденного СВВ у пациента мы отдавали предпочтение ретроградному подходу – сначала выполнялась чрескожная чреспеченочная портография, с целью качественной оценки стеноза, и в дальнейшем ангиопластика. Стентирование воротной вены выполнялось только в случаях безуспешности БА.

Антеградный подход применялся нами в случаях, когда ретроградный подход был невозможен ввиду анатомических особенностей или невозможности завести эндоваскулярные инструменты к месту портального

поражения ввиду турбулентного кровотока и трудно преодолимого постстенотического расширения воротной вены.

Ни в одном случае не возникло хирургических осложнений во время выполнения интервенционного вмешательства. Период наблюдения составил от 3 до 50 месяцев ($26,7 \pm 20,3$ мес.).

Анализ факторов риска развития билиодигестивных стриктур у детей после трансплантации печени

Проведен анализ факторов риска развития БС у детей (табл. 2).

Таблица 2

Анализ факторов риска развития билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей

Параметр	Пациенты со стриктурой (n = 19)	Пациенты без стриктуры (n = 330)	Значение p
Реципиент			
Возраст, месяцы (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	27,9 $\pm$ 30,1	13,2 $\pm$ 15,4	0,04
Пол, n (%)			
Женский	8 (42,1%)	176 (53,3%)	0,34
Мужской	11 (57,9%)	154 (46,7%)	
Масса тела, кг (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	7,9 $\pm$ 3,1	8 $\pm$ 2,7	0,91
Шкала PELD, баллы (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	21 $\pm$ 9,3	20 $\pm$ 9,1	0,65
PELD >15, n (%)	13 (68,4%)	250 (75,8%)	0,47
GRWR (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	3,8 $\pm$ 1,1	3,7 $\pm$ 1	0,66
Вид трансплантации, n (%)			0,13
Родственный ЛЛС	16 (84,2%)	308 (93,3%)	
Сплит-трансплантация ЛЛС	3 (15,8%)	22 (6,7%)	
Количество билиодигестивных анастомозов, n (%)			
Один	13 (68,4%)	220 (66,7%)	0,87
Два	5 (26,3%)	98 (29,7%)	0,75
Три	1 (5,3%)	11 (3,3%)	0,66
Четыре	–	1 (0,3%)	–
Диагноз, n (%)			
Билиарная атрезия	8 (42,1%)	157 (47,6%)	0,39
Билиарная гипоплазия	1 (5,3%)	39 (11,8%)	0,32
Болезнь Байлера	1 (5,3%)	40 (12,1%)	0,31
Синдром Кароли	6 (31,6%)	36 (10,9%)	0,21

Окончание табл. 2

Параметр	Пациенты со стриктурой (n = 19)	Пациенты без стриктуры (n = 330)	Значение p
Синдром Аладжиля	—	16 (4,8%)	—
Криптогенный цирроз	—	11 (3,3%)	—
Гепатобластома	—	4 (1,2%)	—
Гипероксалурия	—	1 (0,3%)	—
Аутоиммунный гепатит	—	2 (0,6%)	—
Синдром Криглер–Найяра	—	2 (0,6%)	—
Гликогеноз тип 1b	—	2 (0,6%)	—
Тирозинемия тип 1	1 (5,3%)	—	—
Дисфункция трансплантата	—	13 (3,9%)	—
Гемохроматоз	—	1 (0,3%)	—
Синдром Волкотта–Раллисона	—	1 (0,3%)	—
Мальформация Абернети	—	1 (0,3%)	—
Лейциноз (болезнь кленового сиропа)	—	1 (0,3%)	—
Дефицит α -1 антитрипсина	1 (5,3%)	1 (0,3%)	—
Галактоземия	1 (5,3%)	—	—
Синдром Жубера	—	1 (0,3%)	—
Гистиоцитоз	—	1 (0,3%)	—
Артериальные нарушения кровотока, n (%)			
Полная окклюзия	2 (10,5%)	7 (2,1%)	0,02
Неполная окклюзия	4 (21,1%)	6 (1,8%)	<0,001
Желчный свищ, n (%)	6 (31,6%)	52 (15,8%)	0,07
Эпизоды отторжения, n (%)	—	10 (3%)	—
AB0-несовместимые трансплантации, n (%)	4 (21,1%)	65 (19,7%)	0,88
Гепатикоеюностомия на каркасном дренаже, n (%)			
с каркасным дренажем	1 (5,3%)	104 (31,5%)	0,01
без каркасного дренаж	18 (94,7%)	226 (68,5%)	
Релапаротомия после трансплантации, n (%)	2 (10,5%)	20 (6,1%)	0,43
Донор			
Возраст, годы (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	30,7 $\pm$ 4,6	30,4 $\pm$ 5,6	0,81
ИМТ (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	22,1 $\pm$ 1,7	22,6 $\pm$ 3	0,54

По полученным данным статистически достоверная разница выявлена в возрасте пациентов ($p = 0,04$). Данная особенность объясняется тем, что

как правило БС формируются в отдаленном периоде. По прочим базовым статистически достоверной разницы в исследуемых группах не выявлено.

Необычным оказалось статистически достоверное увеличение частоты пациентов с синдромом Кароли или фиброхолангиокистозом ($p = 0,21$) в группе пациентов с развившейся БС по данным точного критерия Фишера, однако дальнейшее продолжение поиска закономерностей является предметом дальнейших исследований.

Статистически достоверными факторами риска развития БС были установлены: наличие в анамнезе окклюзирующих ($p = 0,02$) и неокклюзирующих ($p < 0,001$) артериальных осложнений, а также формирование гепатокоеюностомии без каркасного дренажа ($p = 0,01$).

Билиарная реконструкция с использованием каркасного дренажа имеет 3 преимущества по сравнению с другими процедурами. Во-первых, каркасный дренаж позволяет предотвратить развитие АС. Во-вторых, каркасный дренаж позволяет снизить внутрипеченочное билиарное давление путем оттока желчи. В-третьих, объем и внешний вид дебита желчи по дренажу позволяют оценить функцию печеночного трансплантата.

Характеристика клинических результатов интервенционных методов коррекции билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей

В исследуемой группе 11 (57,8%) мальчиков и 8 (42,1%) девочек, в возрасте от 5 до 108 месяцев ($27,8 \pm 28$), с массой тела от 5,6 до 18 кг ($7,9 \pm 8$), в различные сроки после трансплантации печени (от 0,2 до 97 мес.). Диагнозы пациенты были представлены следующими заболеваниями: билиарная атрезия: 8 (42,1%), болезнь Байлера: 1 (5,2%), синдром Кароли: 6 (31,6%), билиарная гипоплазия: 1 (5,2%), дефицит α -1 антитрипсина: 1 (5,2%), тирозинемия тип 1: 1 (5,2%), галактоземия: 1 (5,2%). Значение PELD пациентов составило от 0 до 31 (21 ± 20).

В качестве трансплантата использовались левый латеральный сектор печени (ЛЛС) во всех 19 случаях (родственная ортотопическая трансплантация ЛЛС в 16 случаях и split-трансплантация ЛЛС в 3 случаях). Более чаще БС развивались более чем через год после трансплантации ($17,8 \pm 23,9$ мес.) и в большинстве случаев были АС ($n = 17$; 89,5%). Ни в одном случае не возникло хирургических осложнений во время выполнения интервенционного вмешательства. Период между этапными заменами дренажа составил ранжировался от 101 до 116 дней. Средний период наблюдения у 8 пациентов с полностью завершенным лечением составил более года ($13 \pm 8,7$ мес.). За этот период лишь у одного пациента наблюдалось развитие холангита, успешно купированного на фоне применения системной антибактериальной терапии и ни в одном случае не отмечалось рестеноза билиодигестивного анастомоза.

В табл. 3 представлены характеристики этапного лечения.

Таблица 3

Особенности лечения пациентов с билиодигестивными стриктурами после трансплантации печени

Характеристики	Количество пациентов, n (%)
Прохождение стриктуры, n (%)	
На первом этапе	5 (26,3)
На втором этапе	7 (36,8)
На третьем этапе	2 (10,5)
Не удалось	5 (26,3)
Замен дренажа, n (%)	
Одна	2 (10,5)
Две	2 (10,5)
Три	2 (10,5)
Полный цикл (удаление)	8 (42,1)
Билиарная реконструкция, n (%)	4 (21,1)
Ретрансплантация, n (%)	1 (5,3)

Результаты проведенного лечения у детей с антеградным наружно-внутренним дренированием представлены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты лечения пациентов с чрескожным чреспеченочным антеградным наружно-внутренним дренированием

Пациенты с интервенционным лечением (n = 14)	
Средний период между заменами, дней (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	
Первая замена (10,5 Fr)	101,8 $\pm$ 47,3
Вторая замена (12 Fr)	106 $\pm$ 41
Третья замена (14 Fr)	110,6 $\pm$ 28
Удаление дренажа	115,7 $\pm$ 34,2
Период наблюдения, мес. (ср. знач. $\pm$ станд. откл.)	13 $\pm$ 8,7
Исход манипуляций, n (%)	
благоприятный	7 (87,5)
рестеноз	—
эпизоды холангита	1 (12,5)

Нами был сформирован алгоритм эндобилиарной интервенционной коррекции БС после трансплантации печени у детей (рис. 8).

Полученный опыт демонстрирует необходимость внедрения интервенционных методов коррекции сосудистых осложнений и билиодигестивных стриктур у детей после трансплантации печени. Данные методы



Рис. 8. Алгоритм эндобилиарной интервенционной коррекции билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей

требуют от трансплантологического центра наличия высокотехнологичных программ и высококвалифицированных специалистов, однако позволяет обеспечить отличные результаты при педиатрической трансплантации печени.

Выводы

1. Интервенционная коррекция нарушений артериального кровотока стандартизирована таким образом, чтобы обеспечить восстановление артериальной перфузии трансплантата печени в минимальные сроки, что является ключевым аспектом для достижения хороших послеоперационных результатов.
2. По данным оценки и сравнения групп неокклюзирующего и окклюзирующего нарушения артериального кровотока на развитие осложнений, статистически достоверная разница установлена в возрасте пациентов ($p = 0,06$), а также в баллах шкалы PELD ($p = 0,03$). В группе окклюзирующих артериальных нарушений кровотока достоверно выше частота потери трансплантата или летального исхода ($p = 0,02$).
3. В группе неокклюзирующих нарушений артериального кровотока 1-летняя выживаемость и 3-летняя выживаемость составила 100 и 100% соответственно. В группе окклюзирующих артериальных поражений 1-летняя выживаемость и 3-летняя выживаемость составила 87,8 и 87,8% соответственно.
4. Разработана тактика интервенционных коррекций нарушений portalного кровотока, в основе которой лежит подбор метода конкретной интервенционной коррекции в зависимости от сроков и степени окклюзии воротной вены трансплантата печени.
5. На основе проведенного анализа развития билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей выявлены факторы риска, такие как возраст пациентов ($p = 0,04$), а также наличие в анамнезе окклюзирующих ($p = 0,02$) и неокклюзирующих ($p < 0,001$) артериальных осложнений. Кроме того, фактором риска установлено формирование гепатикоеюностомии без каркасного дренажа ($p = 0,01$).
6. Разработан алгоритм эндобилиарного лечения билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей, включающий этапное наложение холангиостомы, постановку наружно-внутреннего дренажа с его кратной заменой с постепенным увеличением диаметра (8,5–14 Fr).

Практические рекомендации

1. В раннем послеоперационном периоде после трансплантации печени у детей необходим рутинный частый ультразвуковой контроль характеристик кровотоков трансплантата для своевременной диагностики осложнения, раннего начала эндоваскулярного вмешательства.

2. В случае подозрения на развитие стеноза печеночной артерии, рекомендуется незамедлительно выполнять диагностическую ангиографию и при необходимости коррекцию осложнения с целью предотвращения развития тромбоза.
3. При установленном неокклюзирующем артериальном поражении, первым этапом рекомендуется выполнение баллонной ангиопластики области стеноза. Стентирование рекомендуется следующем этапом, в случае неэффективности.
4. В случае установления синдрома артериального «обкрадывания», в качестве малоинвазивной коррекции рекомендуется выполнение именно селективной эмболизации селезеночной артерии – эмболизация периферических артерий селезенки или эмболизация нижнеполюсной артерии при ее наличии. Данная методика позволяет снизить риск развития тяжелых инфекционных осложнений.
5. При стенозе воротной вены у детей после трансплантации печени рекомендуется первым этапом применять ретроградный подход эндоваскулярной коррекции. В случае неэффективности или невозможности выполнения, рекомендуется проведение антеградного подхода из минилапаротомного доступа.
6. При стенозе воротной вены у детей после трансплантации печени предпочтение рекомендуется отдавать технике баллонной ангиопластики. Стентирование рекомендуется следующем этапом, в случае неэффективности.
7. Для снижения рисков развития билиодигестивных стриктур после трансплантации печени у детей, рекомендовано формирование гепатикоеюностомии на каркасном дренаже.
8. Малоинвазивная коррекция стриктуры исключительно с помощью баллонной дилатации не рекомендована, так как характеризуется более высокой частотой развития повторной стриктуры.
9. Нами разработан алгоритм эндобилиарного лечение билиодигестивных структур. После выполнения антеградного прохождения стриктуры, каркасный дренаж рекомендуется оставлять на 3 месяца, с целью последующих программных замен.
10. В случае неудачи прохождения билиодигестивной стриктуры при первой попытке, рекомендовано отложить повторную манипуляцию на 7–10 дней с сохраненной наружной холангиостомы, с целью разрешения холангита и/или желтухи.
11. В случае неудачи малоинвазивного эндобилиарного лечения, рекомендовано сохранение наружной холангиостомы. При выполнении открытой реконструкции желчеотделения, данный дренаж является ориентиром в условиях выраженного спаечного процесса.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Одномоментная трансплантация печени и почки от живого родственного донора детям / Готье С.В., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г., Монахов А.Р., Мойсюк Я.Г., Шаршаткин А.В., Хизроев Х.М., **Восканов М.А.** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. XIII. – № S. – С. 85.
2. Хирургические аспекты сплит-трансплантации фрагментов печени / Готье С.В., Монахов А.Р., Корнилов М.Н., Цирульникова О.М., Джанбеков Т.А., Латыпов А.Р., Круглов Д.Н., Пашкова И.Е., **Восканов М.А.** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. XIX. – № S. – С. 96.
3. Surgical Aspects of Split Liver Transplantation / Sergey Gautier, Artem Monakhov, Maxim Kornilov, Olga Tsiroulnikova, Timur Dzhanbekov, Robert Latypov, Khizri Khizroev, Dmitry Kruglov, Irina Pashkova, **Mikhail Voskanov**, Konstantin Semash, Oksana Silina // Transplantation. – 2018. – 102: S911.
4. Retrospective Analysis of Using the Modified in Pediatric Recipients of Left Lateral Segment Liver Graft / Gautier Sergey, Monakhov Artem, Tsiroulnikova Olga, Dzhanbekov Timur, Meshcheryakov Sergey, Semash Konstantin, **Voskanov Mikhail**, Latypov Robert, Khizroev Khizri // Transplantation. – 2018. – 102: S153.
5. Interventional Radiology in Complication Management after Pediatric Liver Transplantation / Monakhov Artem, Mironkov Boris, Tsiroulnikova Olga, **Voskanov Mikhail**, Dzhanbekov Timur, Semash Konstantin, Meshcheryakov Sergey, Latypov Robert, Pets Veronika, Khizroev Khizri, Gautier Sergey // Transplantation. – 2018. – 102: S150.
6. Сравнительный анализ трансплантации левого латерального сектора от родственного и посмертного донора (сплит-трансплантация) / Монахов А.Р., Джанбеков Т.А., Латыпов А.Р., Цирульникова О.М., Хизроев Х.М., Мещеряков С.В., **Восканов М.А.**, Олешкевич Д.О., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. XX. – № S1. – С. 75.
7. Выбор билиарной реконструкции при родственной трансплантации доли печени / Готье С.В., Монахов А.Р., Цирульникова О.М., Джанбеков Т.А., Мещеряков С.В., Сафарова Ю.А., **Восканов М.А.**, Хизроев Х.М., Латыпов Р.А. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. XX. – № S1. – С. 76.
8. Трансплантация печени и почки от живого родственного донора детям при аутосомно-рецессивной поликистозной болезни почек в сочетании с врожденный фиброхолангиокистозом печени / Монахов А.Р., Милосердов И.А., Корнилов М.Н., Цирульникова О.М., **Восканов М.А.**, Джанбеков Т.А., Хизроев Х.М., Латыпов Р.А., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. XX. – № S1. – С. 78–79.
9. Малоинвазивная коррекция хирургических осложнений у детей после трансплантации печени / Монахов А.Р., МIRONKOV Б.Л., **Восканов М.А.**, Мещеряков С.В., Латыпов Р.А., Пец В.А., Цирульникова О.М., Готье С.В. //

- Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. XX. – № S1. – С. 89–90.
10. Роль передне-заднего размера трансплантата левого латерального сектора в трансплантации печени детям с низкой массой тела / Джанбеков Т.А., Монахов А.Р., Цирульников О.М., Пашкова И.Е., Хизроев Х.М., Мещеряков С.В., **Восканов М.А.**, Несвитайло Е.В., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. XXI. – № S. – С. 82.
 11. Interventional radiological treatment of complications after pediatric liver transplantation / Sergey Gautier, **Mikhail Voskanov**, Artem Monakhov, Boris Mironkov, Olga Tsirolnikova, Timur Dzhanbekov, Sergey Meshcheryakov, Robert Latypov // Transplant International. – 2019. – Vol. 32 Suppl. 2 – p. 173.
 12. Combined liver-kidney transplantation in children: single center experience / Sergey Gautier, **Mikhail Voskanov**, Artem Monakhov, Olga Tsirolnikova, Igor Miloserdov, Timur Dzhanbekov, Sergey Meshcheryakov, Robert Latypov // Transplant International. – 2019. – Vol. 32 Suppl. 2 – p. 175.
 13. The experience of more than 100 AB0-incompatible living donor liver transplantation in children / Irina Pashkova, Artem Monakhov, **Mikhail Voskanov**, Sergey Mescheryakov, Sophia Prokuratova, Olga Tsirolnikova, Sergey Gautier // Transplant International. – 2019. – Vol. 32 Suppl. 2 – p. 219.
 14. Laparoscopic hepatectomy in living liver donors for transplantation in children / Monakhov Artem, Gautier Sergey, Tsirolnikova Olga, Semash Konstantin, Khizroev Khizri, Gallamov Edward, Dzhanbekov Timur, **Voskanov Mikhail**, Meshcheryakov Sergey // Transplantation. – 2019 – Volume 103 – Issue 11S – p. S82.
 15. Laparoscopic living donor right hepatectomy (LLDH) fully exposing the right hepatic vein (conventional approach) / A Monakhov, K Semash, K Khizroev, M Voskanov, SV Gautier // Epublication WebSurg.com. – 2019. – 19 (10).
 16. Deceased vs living donor grafts for pediatric simultaneous liver-kidney transplantation: A single-center experience / Sergey Gautier, Artem Monakhov, Olga Tsirolnikova, Mikhail Voskanov, Igor Miloserdov et al. // J Clin Lab Anal. – 2020. – e23219.
 17. 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.
 18. 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.
 19. Роль эндоваскулярных и эндобилиарных методов в лечении осложнений после трансплантации печени: обзор литературы / Готье С.В., Восканов М.А., Монахов А.Р., Семаш К.О. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020 – Т. XXII – № 4. – С. 141–149.

Список используемых сокращений

АС	– анастомотическая стриктура
АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
БА	– баллонная ангиопластика
БС	– билиодигестивная стриктура
ЛД	– левая доля печени
ЛЛС	– левый латеральный сектор печени
МРТ	– магниторезонансная томография
МСКТ	– мультиспиральная компьютерная томография
НАС	– неанастомотическая стриктура
ПД	– правая доли печени
СВВ	– стеноз воротной вены
СПА	– стеноз печеночной артерии
США	– Соединенные Штаты Америки
ТПА	– тромбоз печеночной артерии
ACT (activated clotting time)	– активированное время свертывания
Fr (френч)	– единица измерения диаметра
Ga (гейдж)	– единица измерения диаметра
GRWR (graft-to-recipient weight ratio)	– отношение массы трансплантата к массе тела реципиента (выражается в процентах)
IBM (International Business Machines)	– один из крупнейших в мире производителей и поставщиков аппаратного и программного обеспечения, а также IT-сервисов и консалтинговых услуг.
ISGLS (International Study Group of Liver Surgery)	– международная исследовательская группа хирургии печени
PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease)	– модель для оценки терминальной стадии заболевания печени у детей

ПРЕДИКТОРЫ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ВАСКУЛОПАТИИ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА

Гончарова А.Ю., 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

Трансплантация сердца является эффективным методом лечения терминальной сердечной недостаточности, улучшающим прогноз и качество жизни, обеспечивающим эффективную физическую и социальную реабилитацию реципиентов [Готье С.В. и соавт., 2019].

Риск развития нежелательных событий и осложнений у реципиентов сердца в послеоперационном периоде связан с множеством факторов, обусловленных особенностями донорского органа, наличием сопутствующих заболеваний, взаимодействием трансплантированного сердца и организма реципиента, побочным действием иммуносупрессивной терапии [Шумаков В.И. и соавт., 2006].

По данным разных авторов, частота возникновения болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) может варьировать от 5 до 30% в течение первого года и от 30 до 70% спустя 10 лет [Шумаков В.И. и соавт., 2008; МIRONKOV Б.Л. и соавт., 2015].

Патогенез БКАПС может включать в себя различные механизмы. Нередко выявляемые изменения в коронарных артериях сердца обусловлены трансмиссивным атеросклерозом. В настоящее время распространенность трансмиссивного атеросклероза растет в связи с необходимостью использования донорских органов от доноров «с расширенными критериями» в связи с увеличением количества пациентов, которым необходимо выполнение трансплантации сердца [Syeda B. et al., 2005]. Другим механизмом патогенеза БКАПС может являться иммунный васкулит, развивающийся на фоне иммунологического взаимодействия организма реципиента с трансплантатом [Smith J. et al., 2011]. Иммунный ответ, формирующийся в процессе взаимодействия антигенов и антител донора и реципиента, оказывает не только непосредственное влияние на интиму

сосудов сердца, но и приводит к развитию острого антителоопосредованного отторжения, которое также может участвовать в формировании васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца [Tambur A.R. et al., 2005]. Предполагается, что прогрессирование изменений в коронарных артериях сердечного трансплантата может быть следствием нежелательного воздействия иммуносупрессивной терапии. В частности, в экспериментальных исследованиях показано, что ингибиторы кальциневрина могут обладать провоспалительным действием и способствовать неоатерогенезу [Tosci M.J. et al., 1989]. Препараты глюкокортикостероидов также обладают доказанным проатерогенным действием. Возможно участие в патогенезе васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца инфекционных агентов, в частности, цитомегаловирусной инфекции, влияющей на эндотелий коронарных сосудов опосредованно через главный комплекс гистосовместимости [Шумаков В.И. и соавт., 2008; Weis M. et al., 2004].

Стоит также учитывать традиционные факторы риска атеросклероза, которые также могут участвовать в патогенезе БКАПС. К ним относятся изменения липидного профиля, наличие у пациентов сахарного диабета (СД) и артериальной гипертензии (АГ) [Шевченко А.О. и соавт., 2013; Шевченко А.О. и соавт., 2018; Luke R.G. et al., 1995; Russo M.J. et al., 2006], в особенности при развитии данных заболеваний после трансплантации сердца на фоне приема иммуносупрессивной терапии, ожирение вследствие ограничения физической активности пациентов, развитие депрессии в послеоперационном периоде.

В настоящее время известно немного исследований, посвященных изучению распространенности, клинического значения, механизмов и методов профилактики БКАПС. Опубликованные в мировой литературе данные нередко противоречивы, получены в малых выборках пациентов и обладают небольшой статистической значимостью. Актуальность данного исследования определяется необходимостью изучения распространенности, факторов риска, исходов БКАПС и возможностей профилактики нежелательных событий, а также выявления патогенетически значимых методов, улучшения отдаленного прогноза у реципиентов сердца.

Цель исследования

Определить распространенность, факторы риска и обосновать эффективность путей профилактики васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

Задачи исследования

1. Оценить распространенность и изучить предикторы выявляемых в раннем послеоперационном периоде атеросклеротических изменений в коронарных артериях донорского сердца.
2. Исследовать динамику прогрессирования изменений в коронарных артериях трансплантата, выявляемых по результатам повторных коронароангиографических исследований, в течение трех лет после трансплантации сердца.
3. Определить факторы, связанные с риском развития нежелательных событий (смерть, ретрансплантация сердца, реваскуляризация коронарных артерий) и прогрессированием васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца в течение трех лет после трансплантации.
4. Охарактеризовать влияние на отдаленный прогноз первичной чрескожной транслуминальной ангиопластики коронарных артерий сердечного трансплантата.
5. Изучить эффективность и безопасность статинов, назначаемых дополнительно к комбинированной иммуносупрессивной терапии, и оценить их влияние на риск развития и прогрессирования васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

Научная новизна

Впервые на основании когортного исследования, включающего 60% всех реципиентов сердца, оперированных в Российской Федерации в период с 2013-го по 2016 год, была изучена распространенность атеросклеротических изменений в коронарных артериях донорских сердец после трансплантации сердца и доказано, что основным фактором, связанным с вероятностью наличия в донорском органе изменений в коронарных артериях, является возраст донора.

Получены доказательства прогрессирования изменений в коронарных артериях с течением времени после трансплантации сердца как у больных с наличием исходных изменений в коронарных артериях, так и без таковых.

Впервые подтверждено, что чрескожная ангиопластика коронарных артерий донорского сердца, выполненная в раннем периоде после трансплантации сердца сопровождается снижением риска развития нежелательных событий в течение последующих трех лет.

Новым является получение подтверждения гипотезы о том, что ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (статины) могут снижать риск развития нежелательных событий с различными ведущими механизмами развития

и прогрессирования васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования указывают на высокую распространенность атеросклероза коронарных артерий в популяции потенциальных доноров сердца.

Доказанная в результате проведенного исследования эффективность эндоваскулярной коррекции изменений коронарных артерий и применение в качестве адъювантной терапии ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы относительно риска развития нежелательных событий дают обоснование необходимости выполнения коронарной ангиопластики в раннем пост-трансплантационном периоде и назначения статинов у реципиентов сердца с целью улучшения отдаленного прогноза.

Полученные данные о факторах, связанных с развитием васкулопатии коронарных артерий сердечного трансплантата, ее влиянием на отдаленные результаты, эффективности ЧТКА и адъювантной терапии ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы могут быть использованы при формулировании клинических рекомендаций по ведению реципиентов сердечного трансплантата.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В популяции доноров сердца изменения в коронарных артериях встречаются часто; изменения со стенозированием более 50% встречаются в 17,3% случаев.
2. Прогрессирование васкулопатии коронарных артерий с течением времени после трансплантации сердца отмечается как у лиц с исходными изменениями, так и у лиц с исходно неизмененными коронарными артериями, однако у лиц с наличием значимых стенозов (более 50%) частота прогрессирования достоверно выше.
3. Наличие изменений коронарных артерий донорского сердца является фактором риска развития нежелательных событий в течение последующих трех лет после трансплантации сердца.
4. Выполнение реваскуляризации коронарных артерий в раннем периоде после трансплантации сердца и назначение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы снижают риск развития нежелательных событий.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (341 пациент, обследованный до и после трансплантации сердца), использованием современных клинических, лабораторных, статис-

тических методов исследования и анализа. Работа выполнена в рамках государственных заданий Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок по темам: «Разработка биотехнологических, биомедицинских, клинических подходов к повышению эффективности трансплантации сердца и легких» (2015–2017 гг.), «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.).

Апробация работы состоялась 18 июля 2020 года на заседании объединенной научной конференции научных и клинических отделений и лабораторий 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»), 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 Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава РФ), кафедры кардиологии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ).

Основные результаты работы доложены и обсуждены на IV Российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 7–9 октября 2019 г.), X Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 5–7 октября 2020 г.), Российском национальном конгрессе кардиологов 2020 (Казань, 29 сентября – 1 октября 2020 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются в кардиологическом отделении, кардиохирургических отделениях № 1 и № 3 ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, в 1-м кардиологическом отделении Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловская

областная клиническая больница № 1» (г. Екатеринбург); в Краевом государственном бюджетном учреждении Алтайского края «Алтайский краевой кардиологический диспансер» (г. Барнаул), а также в учебном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, кафедре кардиологии факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Материалы и методы исследования

В исследование последовательно включались все пациенты, которым была выполнена трансплантация сердца в 2013–2016 годах в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России и пережившие 30 дней после операции.

Всего в исследование был включен 341 реципиент сердца в возрасте от 12 до 68 лет (средний возраст $55,0 \pm 13,0$ лет), из них – 52 женщины и 288 лиц мужского пола.

Показанием к выполнению ОТТС явилась хроническая сердечная недостаточность (ХСН) III и IV функционального класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA).

После выполнения ОТТС всем реципиентам проводилась лабораторная диагностика – общий анализ крови, биохимический анализ крови, развернутая коагулограмма с агрегацией тромбоцитов, концентрация такролимуса в крови, определение газового состава, электролитного состава и кислотно-основного состояния крови, гликемический профиль, исследование гормонов щитовидной железы, вирусологическое исследование крови, определение группы крови и резус-фактора, исследование крови на вирусы гепатитов В и С, вирус иммунодефицита человека, сифилис, общий анализ мочи. В качестве инструментальных методов диагностики проводилось электрокардиографическое исследование (ЭКГ), электрокардиографическое исследование (ЭхоКГ) с определением глобальной систолической и диастолической функции левого желудочка, размеров полостей сердца, работы клапанного аппарата сердца, наличия жизнеугрожающих нарушений ритма и проводимости сердца. После выполнения трансплантации сердца всем реципиентам сердца выполнялись КАГ и эндомиокардиальная биопсия (ЭМБ) согласно протоколу исследований. Первая КАГ и ЭМБ выполнялась в первую неделю после трансплантации, затем – по показаниям, но не реже одного раза в год в отделении рентгенохирургических методов диагностики и лечения (руководитель отделения профессор, д. м. н. Б.Л. МIRONKOV). Обследование реципиентов сердца

проводилось в специализированных отделениях ФГБУ НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова.

В раннем послеоперационном периоде все реципиенты сердца получали индукционную иммуносупрессивную терапию специфическим антагонистом рецепторов к интерлейкину-2 базиликсимабом (на 1-е и 4-е сутки после ОТТС), а также базовую трехкомпонентную терапию, включающая ингибитор кальциневрина такролимус (целевая концентрация в течение первых 60 дней после ОТТС 10–15 мг/мл), антиметаболические средства (препараты микофеноловой кислоты и микофенолата мофетила) и глюкокортикостероиды (метилпреднизолон).

Производилась оценка выживаемости реципиентов с трансплантированным сердцем без нежелательных событий по логранговому критерию (log-rank). К нежелательным событиям относились: смерть от всех причин, развитие дисфункции сердечного трансплантата, требующей выполнения ретрансплантации сердца, выполнение баллонной вазодилатации со стентированием или без такового в связи с гемодинамически значимым изменением коронарных артерий.

Материалы, полученные при выполнении исследования, были сведены в электронную базу данных. Полученные данные были обработаны на компьютере с применением программного обеспечения Statistica 13 с использованием прикладных программ для выполнения научно-технических расчетов. Для определения нормальности выборки использовался критерий Шапиро–Уилка. Статистическая обработка результатов проводилась методами непараметрической статистики: для сравнения зависимых выборок применяли парный критерий Вилкоксона, при сравнении независимых переменных использовали U-критерий Манна–Уитни. При использовании всех критериев и тестов критический уровень значимости был равен 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

В период с января 2013-го по декабрь 2016 года в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» была выполнена 431 ОТТС, из них 19 реципиентам была выполнена ретрансплантация сердца. В исследование включались пациенты, пережившие 30 дней после выполнения трансплантации сердца.

Критериям включения в исследование соответствовал 341 пациент в возрасте от 12 до 68 лет (средний возраст реципиентов сердца – $55,0 \pm 13,0$ лет), из них 52 женщины и 288 лиц мужского пола.

Показанием для выполнения трансплантации сердца в исследуемой группе реципиентов являлась терминальная стадия ХСН вследствие дилатационной (ДКМП) (199 пациентов), ишемической (ИКМП) (118 пациентов), гипертрофической (ГКМП) (8 пациентов), рестриктивной (РКМП) (4 пациента) кардиомиопатии или дисфункции сердечного трансплантата (12 пациентов).

Все пациенты перед выполнением оперативного вмешательства находились в листе ожидания трансплантации сердца, где очередность выполнения ОТТС определялась статусом пациентов по UNOS. Статус UNOS 1A получило 80 пациентов, статус UNOS 1B – 120, статус UNOS 2 – 141.

Возраст посмертных доноров сердца составлял от 18 до 64 ($47 \pm 11,2$) лет; 86 доноров были женского пола, а 255 – мужского. Причиной смерти доноров в 145 случаях явилась черепно-мозговая травма (ЧМТ), в 167 – острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), смерть от иных причин была зафиксирована в 29 случаях. 66 донорам инотропная или вазопрессорная поддержка не потребовалась, у 61 пациента была использована инотропная поддержка допамином, у 172 доноров использовалась вазопрессорная поддержка норадреналином, а в 42 случаях использовалась комбинированная поддержка допамином и норадреналином.

Всем реципиентам сердца, включенным в исследование, выполнялась ОТТС в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова»: 86 реципиентам – по биатриальной, а 255 – по бикавальной методике. Среднее время ишемии трансплантата составило от 67 до 650 ($131 \pm 64,4$) минут, среднее время применения аппарата искусственного кровообращения во время трансплантации сердца составило от 55 до 297 ($87 \pm 42,3$) минут.

Анализ изменений коронарных артерий донорского сердца, выявляемых в раннем послеоперационном периоде

В среднем, первичные КАГ и ЭМБ выполнялись в период от 3 до 25 дней, медиана составляла 4 дня. У 282 реципиентов сердца по данным КАГ визуально гемодинамически значимого стенотического поражения коронарных артерий выявлено не было, эти пациенты вошли в группу исследования 1. У 59 пациентов выявлено стенотическое поражение эпикардальных коронарных артерий более 50%, из них в 33 случаях эндоваскулярная коррекция изменений коронарных артерий не производилась и реципиенты сердца с таким поражением коронарного русла вошли в группу исследования 2А; у 26 реципиентов сердца была выполнена первичная ЧТКА и эти пациенты вошли в группу исследования 2В.

Был проведен статистический анализ показателей реципиентов сердца с различной степенью поражения коронарных артерий донорских сердец. Сравнительная характеристика реципиентов сердца представлена в табл. 1.

Таблица 1

Сравнительная клиническая характеристика реципиентов сердца исследуемых групп

Показатель	Группы реципиентов сердца			Достоверность различий p: p1-2A p1-2B p2A-2B
	Группа 1	Группа 2A	Группа 2B	
Возраст, лет ср. зн. ± ст. откл. диапазон вариаций	48 ± 12,9 12–68	35 ± 13,5 18–66	60 ± 13,7 21–68	0,76 0,15 0,41
Пол: мужчины, n (%)	238 (84,4)	27 (81,8)	24 (92,3)	0,74 0,56 0,36
Исходный диагноз, n (%):				
ДКМП	161 (57,1)	21 (63,6)	17 (65,4)	
ИКМП	98 (34,8)	12 (36,4)	8 (30,8)	0,36
ДСТ	11 (3,9)	–	1 (3,8)	0,4
ГКМП	8 (2,8)	–	–	0,9
РКМП	4 (1,4)	–	–	
Статус по UNOS, n (%):				
1A	60 (21,3)	11 (33,3)	9 (34,6)	0,95
1B	103 (36,5)	8 (24,3)	9 (34,6)	0,31
2	119 (42,2)	14 (42,4)	8 (30,8)	0,48
Сахарный диабет, n (%)	26 (10,3)	2 (6,1)	3 (11,5)	0,81 0,81 0,73
АГ в анамнезе, n (%)	80 (28,4)	13 (39,4)	10 (38,5)	0,26 0,4 0,89

При сравнении клинических параметров реципиентов сердца достоверных различий в исследуемых группах выявлено не было.

Также в исследовании оценивались различные показатели донорских сердец, что представлено в табл. 2.

При проведении сравнительного анализа среди доноров сердца установлено, что в группе исследования с гемодинамически значимым стенотическим поражением коронарных артерий и выполненной в раннем послеоперационном периоде эндоваскулярной коррекции (группа 2B) возраст донора был достоверно выше, чем в группах 1 и 2A, что позволяет учитывать возраст донора сердца как предиктор атеросклеротических изменений коронарных артерий донорского органа.

Таблица 2

Сравнительная характеристика доноров в исследуемых группах

Показатель	Группа 1	Группа 2А	Группа 2В	Достоверность различий р: р1-2А р1-2В р2А-2В
Возраст, лет ср. зн. ± ст. откл. диапазон вариаций	40 ± 11,2 18–64	51 ± 8,9 21–58	55 ± 7,3 30–64	0,003 0,001 0,04
Пол: мужчины, n (%)	205 (72,7)	25 (75,8)	24 (92,3)	0,9 0,13 0,28
Причина смерти, n (%): ЧМТ ОНМК Иные причины	131 (46,5) 130 (46,1) 21 (7,4)	8 (24,2) 21 (63,7) 4 (12,1)	6 (23,1) 16 (61,5) 4 (15,4)	0,04 0,06 0,99
Медикаментозная поддержка, n (%): Без таковых Допамин Норадреналин НА + Допамин	52 (18,4) 52 (18,4) 139 (49,4) 39 (13,8)	7 (21,2) 2 (6,1) 22 (66,6) 2 (6,1)	6 (23,1) 7 (26,9) 11 (42,3) 2 (7,7)	0,69 0,39 0,29

Также при выполнении исследования учитывались особенности течения периоперационного периода, такие как методика ОТТС (бикавальная или биатриальная), длительность ишемии трансплантата и длительность искусственного кровообращения. При проведении статистического анализа достоверных различий по вышеуказанным параметрам в исследуемых группах выявлено не было ($p > 0,2$).

При изучении характера поражения коронарных артерий по данным КАГ в раннем послеоперационном периоде, выявлено типичное атеросклеротическое поражение коронарных артерий – эксцентрическое поражение проксимальных отделов коронарных артерий, при этом поражение являлось фокальным.

Оценка характера поражения коронарных артерий также производилась путем вычисления индексов поражения коронарных артерий (все поражения сосудов любой выраженности, индекс от 0 до 10), индекса значимого поражения коронарных артерий (стенозы сосудов более 50%, индекс от 0 до 10) и индекса поражения крупных сосудов коронарного русла (индекс от 0 до 4). В первой группе пациентов поражение коронарных артерий характеризовалось развитием стенотического поражения,

суживающего просвет артерий менее чем на 50%, при этом поражение в крупных стволах коронарного русла выявлялось в 10% всех исследований, в поражение были вовлечены не более трех ветвей коронарного русла (10% от общего числа пациентов группы). В группе 2А индекс поражения коронарных артерий составил $1,0 \pm 1,4$, индекс значимого поражения коронарных артерий составил $1,0 \pm 0,9$, индекс поражения крупных сосудов коронарного русла – $1,0 \pm 0,6$, при этом сумма поражения по трем индексам составила $3,5 \pm 2,8$. В группе пациентов с ЧТКА, выполненной в раннем посттрансплантационном периоде (группа 2В) индекс поражения коронарных артерий составил $3,0 \pm 1,7$, индекс значимого поражения коронарных артерий составил $2,0 \pm 1,6$, индекс поражения крупных сосудов коронарного русла – $2,0 \pm 0,7$, при этом сумма поражения по трем индексам составила $7,0 \pm 3,8$. Соответственно, поражение коронарных сосудов было более значимым в группе 2В, в связи с чем выполнение первичной ЧТКА было целесообразно.

Таким образом, сравнительный анализ показал, что значимых различий между группами исследования не наблюдалось, что позволило провести статистическое исследование между исследуемыми группами. Однако при изучении характеристик доноров сердца установлено, что в группе реципиентов сердца с гемодинамически значимым стенотическим поражением коронарных артерий и выполненной в связи с этим ЧТКА в раннем посттрансплантационном периоде возраст донора был сравнительно выше, чем в группах 1 и 2А. Таким образом, возраст донора является одним из факторов, обуславливающих наличие изменений атеросклеротического характера коронарных артерий донорского органа.

При исследовании характеристики поражения коронарного русла выявлено, что в группе исследования 2В отмечается самый высокий уровень индексов поражения коронарных артерий ($3,0 \pm 1,7$), значимого поражения коронарных артерий ($2,0 \pm 1,6$), поражения крупных сосудов коронарного русла ($2,0 \pm 0,7$), при этом сумма поражения по трем индексам составила $7,0 \pm 3,8$, что обосновывает целесообразность выполнения ЧТКА в данной группе пациентов.

Изучение динамики прогрессирования васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца

Оценивали результаты контрольных КАГ во время планового стационарного обследования спустя $441 \pm 182,06$ и $1072 \pm 342,2$ дней после ортотопической трансплантации сердца.

При сравнении данных контрольных коронароангиографических исследований в каждой группе пациентов производился расчет доли пациентов, выраженной в процентах от общего числа реципиентов сердца в группах, у которой было выявлено развитие и прогрессирование васкуло-

патии коронарных артерий трансплантированного сердца в течение трех лет после выполненной ОТТС. Сравнительный анализ динамики развития васкулопатии коронарных артерий представлен в табл. 3.

Таблица 3

Сравнительная характеристика динамики развития васкулопатии коронарных артерий у реципиентов сердца в течение трехлетнего наблюдения

Срок после ОТТС (дни)	Доля реципиентов с выявленными изменениями коронарных артерий трансплантата, %			Достоверность различий p: p1-2A p1-2B p2A-2B
	Группа 1	Группа 2A	Группа 2B	
441 ± 182,06	22,3	62,5	78,9	0,001 0,001 0,2
1072 ± 342,2	25,4	61,5	68,2	0,001 0,001 0,5

Установлено, что развитие и прогрессирование васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца отмечается у всех реципиентов, вне зависимости от исходного состояния коронарного русла, однако чаще всего БКАПС регистрируется у пациентов с исходным гемодинамически значимым стенотическим поражением коронарных артерий.

Производилась оценка необходимости выполнения эндоваскулярной коррекции изменений коронарных артерий трансплантированного сердца в течение трехлетнего наблюдения после выполненной трансплантации сердца. Данные проведенного анализа были представлены в виде выраженной в процентах от общего количества пациентов исследуемых групп доли реципиентов сердца, которым была проведена ЧТКА. Сравнительная характеристика необходимости проведения ЧТКА в отдаленном послеоперационном периоде представлена в табл. 4.

Анализ полученных за период наблюдения длительностью 1072 ± 342,2 дней данных показал, что с течением времени на фоне развития и прогрессирования васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца растет потребность в выполнении эндоваскулярной коррекции изменений коронарных артерий. Однако, как и в случае с распространенностью БКАПС, в группе исследования пациентов с гемодинамически значимым поражением коронарных артерий отмечалась высокая частота выполнения повторных эндоваскулярных вмешательств, что связано с первоначальным более тяжелым состоянием реципиентов сердца, в связи с чем выполнение ЧТКА у этих пациентов являлось необходимым.

Таблица 4

Сравнительная характеристика потребности выполнения чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики пораженных коронарных артерий в течение трехлетнего наблюдения

Срок после ОТТС (дни)	Доля реципиентов с выявленными изменениями коронарных артерий трансплантата, %			Достоверность различий p: p1-2A p1-2B p2A-2B
	Группа 1	Группа 2A	Группа 2B	
441 ± 182,06	7,7	20,8	52,6	0,02 0,00 0,05
1072 ± 342,2	12,7	30,8	27,3	0,01 0,06 0,8

Концентрация такролимуса и эпизоды острого отторжения сердечного трансплантата и их влияние на динамику прогрессирования изменений коронарных артерий

Оценивали связь между концентрацией такролимуса в крови в раннем послеоперационном периоде и динамикой прогрессирования БКАПС. Целевой концентрацией такролимуса в крови в первый год считалась концентрация такролимуса от 10 до 15 нг/мл.

Средняя концентрация такролимуса в исследуемых группах, определенная в раннем посттрансплантационном периоде, представлена в табл. 5.

Таблица 5

Сравнительный анализ средней концентрации такролимуса в исследуемых группах в раннем посттрансплантационном периоде

Группы реципиентов сердца	Концентрация такролимуса, нг/мл
Группа 1	10,75 ± 3,1
Группа 2A	11,9 ± 2,8
Группа 2B	8,9 ± 2,9

Примечание. При сравнении групп реципиентов сердца достоверность различий $p > 0,48$.

Сравнительный анализ между исследуемыми группами не показал значимых различий в определенной в раннем периоде концентрации та-

кролимуса в крови, в связи с чем, данный фактор не оказывал значимого влияния на прогрессирование БКАПС.

Проводилось исследование влияния эпизодов острого отторжения сердечного трансплантата на динамику прогрессирования БКАПС. По данным ЭМБ у пациентов осуществлялась диагностика острого клеточного и антителоопосредованного отторжения. Данные, полученные при морфологическом и иммуногистохимическом анализе, представлены в табл. 6.

Таблица 6

**Сравнительный анализ частоты эпизодов острого отторжения
сердечного трансплантата в исследуемых группах в раннем
послеоперационном периоде**

Показатель	Группа 1	Группа 2А	Группа 2В	Достоверность различий р: p1-2А p1-2В p2А-2В
Острое клеточное отторжение, n (%):				
R0G	132 (38,7)	20 (5,9)	15 (4,4)	0,2
R1G	134 (39,3)	12 (3,5)	11 (3,2)	0,3
R2G	14 (4,1)	1 (0,3)	0	0,9
R3G	2 (0,6)	0	0	
Острое гуморальное отторжение, n (%)	9 (2,6)	1 (0,3)	0	0,9 0,8 0,8

Статистически значимых различий между частотой развития острого клеточного и антителоопосредованного отторжения сердечного трансплантата в раннем посттрансплантационном периоде в группах реципиентов выявлено не было. Частота кризов острого клеточного и антителоопосредованного отторжения сердечного трансплантата была выше в первой исследуемой группе, однако доля этих пациентов была сравнительно одинаковой во всех исследуемых группах, то есть, частота и тяжесть острого отторжения сердечного трансплантата в раннем периоде после трансплантации сердца не оказывали влияние на динамику прогрессирования БКАПС.

***Анализ влияния артериальной гипертензии и сахарного диабета
на динамику изменений коронарных артерий у реципиентов сердца***

После ОТТС артериальная гипертензия наблюдалась у 161 пациента, при этом 137 реципиентов сердца входили в первую группу исследова-

ния, 13 пациентов в группу исследования с гемодинамически значимыми стенозами без ЧТКА в раннем послеоперационном периоде (2А) и 11 пациентов входили в группу с эндоваскулярным вмешательством, выполненном в раннем посттрансплантационном периоде (2В).

Несмотря на количественное различие реципиентов сердца с артериальной гипертензией в исследуемых группах, доля пациентов статистически не различалась ($p = 0,7$).

Сахарный диабет на фоне приема иммуносупрессивной терапии был выявлен в 10 случаях, все пациенты принадлежали к первой группе исследования, что составляло 3,5% от всего количества пациентов без гемодинамически значимого стенотического поражения коронарных артерий. При статистическом анализе установлено, что наличие сахарного диабета в анамнезе не оказывало влияние на прогрессирование васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

В табл. 7 приведен сравнительный анализ частоты встречаемости АГ и СД и реципиентов трех исследуемых групп после трансплантации сердца.

Таблица 7

Сравнительная характеристика пациентов с артериальной гипертензией и сахарным диабетом в послеоперационном периоде

Показатель	Группа 1	Группа 2А	Группа 2В	Достоверность различий p : p_{1-2A} p_{1-2B} p_{2A-2B}
Артериальная гипертензия, %	40,2	3,8	3,2	0,47 0,65 0,85
Сахарный диабет, %	3,5	0	0	0,45 0,95 0,61

Таким образом, развитие в послеоперационном периоде таких заболеваний, как артериальная гипертензия и сахарный диабет не оказывали влияние на развитие и прогрессирование БКАПС.

Влияние дислипидемии на прогрессирование васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

Эффективность и безопасность ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы

Оценивались показатели липидного обмена у пациентов, включенных в исследование. В исследовании учитывались такие показатели, как

уровень общего холестерина крови, липопротеинов высокой плотности, липопротеинов низкой плотности и триглицеридов. Производился сравнительный анализ между исследуемыми группами пациентов и в каждой из исследуемых групп в течение трехлетнего наблюдения. В табл. 8 представлена сравнительная характеристика показателей липидного обмена в трех группах исследования.

Таблица 8

**Сравнительный анализ показателей липидного обмена
в исследуемых группах реципиентов сердца в течение трехлетнего
наблюдения**

Показатель	Время после ОТТС	Группа 1	Группа 2А	Группа 2В	Достоверность различий р: р1-2А р1-2В р2А-2В
ОХС, ммоль/л	Ранний п/о период	4,7 ± 1,2	4,3 ± 1,2	4,6 ± 0,8	0,18 0,93 0,09
	441 ± 182,06 дней	4,4 ± 1,2	5,0 ± 0,2	3,8 ± 1,2	0,52 0,43 0,5
	1072 ± 342,2 дней	4,6 ± 1,2	4,2 ± 1,1	4,2 ± 0,6	0,2 0,2 0,9
ЛПНП, ммоль/л	Ранний п/о период	2,5 ± 0,9	2,0 ± 0,8	2,5 ± 0,7	0,18 0,71 0,27
	441 ± 182,06 дней	2,5 ± 0,9	2,6 ± 0,1	2,1 ± 0,8	0,6 0,3 0,4
	1072 ± 342,2 дней	2,6 ± 0,9	2,1 ± 0,9	2,2 ± 0,6	0,1 0,3 0,9
ЛПВП, ммоль/л	Ранний п/о период	1,2 ± 0,5	1,3 ± 0,6	1,5 ± 0,4	0,88 0,26 0,71
	441 ± 182,06 дней	1,2 ± 0,4	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,5	0,01 0,9 0,2
	1072 ± 342,2 дней	1,1 ± 0,4	1,3 ± 0,4	1,1 ± 0,2	0,9 0,9 0,9

Окончание табл. 1

Показатель	Время после ОТТС	Группа 1	Группа 2А	Группа 2В	Достоверность различий р: p1-2А p1-2В p2А-2В
ТГ, ммоль/л	Ранний п/о период	1,3 ± 0,7	0,9 ± 0,3	1,2 ± 0,9	0,2 0,8 0,7
	441 ± 182,06 дней	1,3 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,5	0,2 0,9 0,3
	1072 ± 342,2 дней	1,1 ± 0,9	1,1 ± 0,3	1,6 ± 0,8	0,05 0,5 0,1

Примечание. ОХС – общий холестерин; ЛПНП – липопротеины низкой плотности; ЛПВП – липопротеины высокой плотности; ТГ – триглицериды; п/о – послеоперационный.

При проведении сравнительного анализа показателей липидного обмена у реципиентов сердца в исследуемых группах в течение трехлетнего периода наблюдения статистически значимых различий в исследуемых группах выявлено не было. Также было выполнено статистическое исследование динамики изменения уровня общего холестерина, липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов крови внутри каждой исследуемой группы в течение трех лет, по данным которого достоверных различий среди показателей липидного обмена в каждой группе в течение трех лет наблюдения выявлено не было ($p > 0,4$).

В раннем послеоперационном периоде в качестве гиполипидемической терапии ряду пациентов были назначены препараты ГМГ-КоА-редуктазы. В первой группе исследования данные препараты были назначены у 18,4% пациентов, в группе пациентов с гемодинамически значимым стенотическим поражением коронарных артерий, которым не проводилась чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика (2А) – 21,2%, а в группе пациентов 2В – 23,1%.

В ходе плановой госпитализации через 441 ± 182,06 дней было проведено исследование и оценка динамики показателей липидного обмена и результатов коронароангиографии. Была выявлена нормализация показателей липидного обмена во всех группах исследования на фоне назначенной терапии ингибиторами ГМГ-КоА-редуктазы.

Спустя 441 ± 182,06 дней препараты ГМГ-КоА-редуктазы были назначены также в 18,4% случаев пациентов первой исследуемой группы,

38,7% пациентов группы исследования 2А и в 23,1% пациентов группы 2В.

Во всех группах показатели липидного обмена значимо не изменились. На фоне проводимой терапии препаратами ГМГ-КоА-редуктазы концентрация холестерина и других исследуемых показателей оставались стабильными. Спустя $1072 \pm 342,2$ дней препараты ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы были назначены в 38,7% случаев пациентам первой исследуемой группы, 42,4% пациентам исследуемой группы 2А и у 38,5% пациентам группы с ЧТКА, выполненной в раннем посттрансплантационном периоде.

На фоне проводимой терапии препаратами ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы показатели липидного обмена у пациентов всех исследуемых групп находятся в пределах целевых значений с учетом правильного приема согласно инструкции без самостоятельной отмены пациентами. Также отмечено снижение и нормализация уровня холестерина в крови при приеме ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в течение трехлетнего наблюдения. У всех пациентов исследования не было отмечено побочных эффектов или неблагоприятных лекарственных на фоне приема иммуносупрессивной терапии, в связи с чем прием препаратов ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы можно признать безопасным в применении.

Результаты настоящего фрагмента исследования показали, что изменения атеросклеротического характера коронарных артерий донорского органа оказывают влияние на прогрессирование васкулопатии коронарных артерий, а также обуславливают необходимость в выполнении повторных ЧТКА в отдаленном посттрансплантационном периоде.

Такие факторы, как сахарный диабет, артериальная гипертензия, принимаемая иммуносупрессивная терапия и развитие острого клеточного и антителоопосредованного отторжения сердечного трансплантата, не оказывают значимого влияния на прогрессирование васкулопатии сердечного трансплантата.

Применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы дополнительно к иммуносупрессивной терапии стабилизирует показатели липидного обмена, что было показано в течение трехлетнего периода наблюдения, а также безопасно при совместном применении с иммуносупрессивной терапией.

Выживаемость без нежелательных событий у реципиентов сердца

В качестве нежелательных событий в исследовании рассматривались смерть от всех причин, повторная трансплантация сердца в связи с развитием дисфункции сердечного трансплантата и васкулопатия коронарных артерий трансплантированного сердца, потребовавшая выполнения ЧТКА.

Среднее время наблюдения пациентов исследования составило $1794,8 \pm 54,8$ (95% ДИ 1687,4–1902,2) дня.

Кривая выживаемости без нежелательных событий представлена на рис. 1.

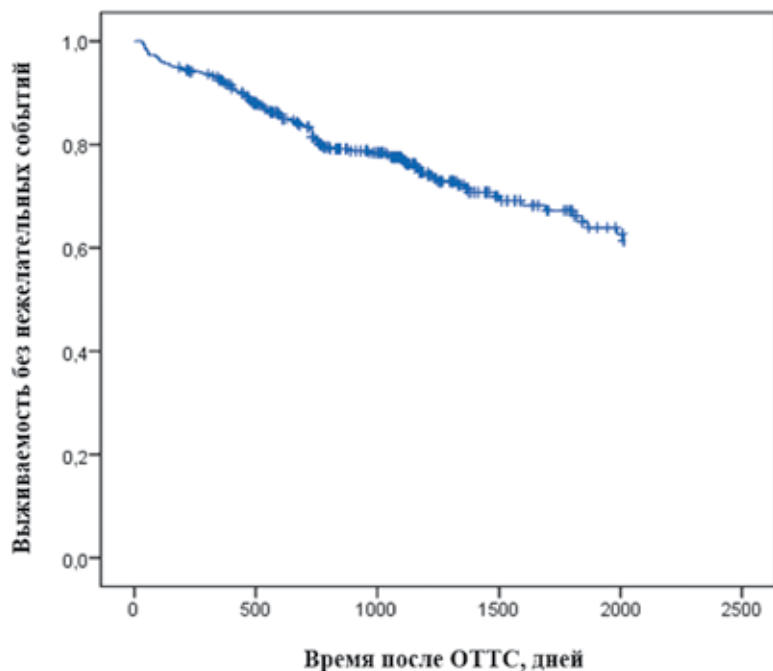


Рис. 1. Кривая выживаемости без нежелательных событий у реципиентов сердца

В течение всего периода наблюдения за пациентами всего было зафиксировано 90 нежелательных событий: из них 20 летальных исходов (5,9%) от всех причин, 54 события (15,8%) с гемодинамически значимым поражением коронарных артерий, потребовавшим выполнения ЧТКА и 15 пациентам (4,4%) была выполнена ретрансплантация сердца в отдаленном послеоперационном периоде в связи с развитием дисфункции сердечного трансплантата.

Предикторы нежелательных событий у реципиентов сердца

Проводилась оценка влияния различных факторов на развитие нежелательных событий в исследуемых группах. При проведении статистических расчетов использовалась функция хи-квадрат, проводилась оценка статистической значимости факторов с помощью критерия Манна–Уитни, также выполнялось построение кривых выживаемости Каплана–Майера.

В качестве предикторов нежелательных событий изучались популяционные критерии донора и реципиента, особенности оперативного вмешательства, наличие у реципиентов сахарного диабета и артериальной гипертензии (табл. 9), развитие у пациентов острого клеточного и антителоопосредованного отторжения, а также применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в качестве адъювантной терапии.

В качестве нежелательных учитывались такие события, как смерть от всех причин, потеря трансплантата с последующей ретрансплантацией сердца и выполнение ЧТКА.

Таблица 9

Влияние различных факторов риска на развитие нежелательных событий в исследуемых группах

Предиктор	Группа 1		Группа 2А		Группа 2В	
	χ^2	р	χ^2	р	χ^2	р
Возраст	1,3	0,3	1,5	0,3	0,8	0,09
Мужской пол	0,9	0,9	1,2	0,7	1,2	0,5
Возраст донора	2,6	0,001	1,6	0,3	0,9	0,4
Мужской пол донора	0,8	0,4	0,9	0,7	1,1	0,6
Время ИТ	0,5	0,6	0,7	0,5	0,9	0,8
ОКО	0,8	0,5	0,7	0,5	0,9	0,8
ОАО	0,9	0,5	1,2	1	1,9	1
Сахарный диабет	1,4	0,8	0,8	0,9	1,2	0,7
Артериальная гипертензия	1,3	0,5	1,6	0,5	1,1	0,2

Примечание. ЧТКА – чрескожная транслуминальная коронарная ангиопластика; ИТ – ишемия трансплантата; ОКО – острое клеточное отторжение; ОАО – острое антителоопосредованное отторжение.

Статистически значимым оказался возраст донора, который влиял на развитие нежелательных событий в исследуемых группах, особенно в группе пациентов с гемодинамически незначимым стенотическим поражением коронарных артерий. Возраст донора старше 45 лет в два раза увеличивает риск развития нежелательных событий в отдаленном послеоперационном периоде.

Результат оценки данных выживаемости без нежелательных событий в исследуемых группах реципиентов на фоне приема ингибиторов ГМК-КоА-редуктазы представлен на рис. 2 и 3.

Получены доказательства эффективности применения ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в снижении частоты развития нежелательных событий в течение трехлетнего наблюдения.

Полученные данные доказывают, что подбор оптимальных доноров влияет на отдаленный прогноз у реципиентов сердца, в том числе, на раз-

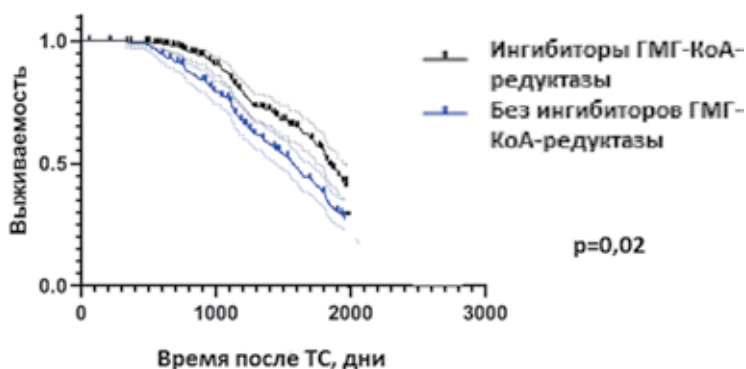


Рис. 2. Сравнительный анализ выживаемости у реципиентов сердца 1-й группы, принимающих и не принимающих ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы

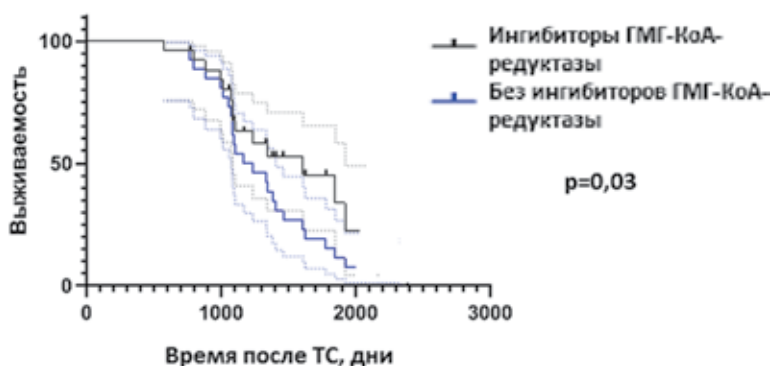


Рис. 3. Сравнительный анализ выживаемости у реципиентов сердца группы 2В, принимающих и не принимающих ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы

витие нежелательных событий и на прогрессирование васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

При этом популяционные характеристики реципиентов, течение периоперационного периода, развитие эпизодов острого клеточного и антителоопосредованного отторжения сердечного трансплантата, сахарный диабет, артериальная гипертензия не оказывали значимого влияния на риск развития нежелательных событий у реципиентов сердца.

Сравнение выживаемости и риска развития нежелательных событий у реципиентов с поражением коронарных артерий донорского сердца различной степени

Проводилась оценка влияния изменений коронарных артерий у реципиентов сердца в исследуемых группах, которые пережили 30 дней после выполнения ОТТС.

Пациенты всех исследуемых групп проходили плановые контрольные исследования спустя $441 \pm 182,06$ и $1072 \pm 342,2$ дня. Исследуемые группы не имели статистически значимых различий ($p > 0,05$) между собой по таким параметрам, как возраст, пол, предтрансплантационный диагноз, наличие сахарного диабета и артериальной гипертензии в анамнезе, статус по UNOS, техника оперативного вмешательства, время искусственного кровообращения и ишемии трансплантата, пол донора, причина смерти донора, использование инотропной и вазопрессорной поддержки у донора, количеству пациентов с развитием острого отторжения сердечного трансплантата, концентрации такролимуса, однако между группами существует статистически значимое различие касательно возраста донора.

У реципиентов сердца первой исследуемой группы было выявлено 53 нежелательных события (15,5%), из них 15 летальных исходов (4,4%), 26 случаев (7,6%) ЧТКА по поводу гемодинамически значимого стенотического поражения коронарных артерий и 11 случаев (3,2%) ретрансплантации сердца в связи с развитием дисфункции сердечного трансплантата.

У реципиентов сердца с гемодинамически значимым стенотическим поражением коронарных артерий по данным КАГ (2А), выполненной в раннем послеоперационном периоде (группа 2А), было выявлено 14 нежелательных событий (4,1%), из них 4 смертельных исхода (1,2%), 8 случаев (2,3%) ЧТКА в связи с гемодинамически значимым стенотическим поражением коронарных артерий и 2 случая (0,6%) повторной трансплантации сердца в связи с развитием дисфункции сердечного трансплантата на фоне острого отторжения сердечного трансплантата (1495 сутки после ОТТС) и развития инфаркта миокарда трансплантированного сердца (1864 сутки после ОТТС).

У пациентов группы 2В было зафиксировано 23 нежелательных события (6,7%), при этом летальных исходов в данной группе исследования зафиксировано не было, 21 случай (6,2%) ЧТКА в связи с прогрессированием васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца и два случая (0,6%) ретрансплантации сердца, при этом оба случая явились следствием дисфункции сердечного трансплантата на фоне васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца (1358 и 1319 суток после ОТТС).

Все группы исследования сравнивались по непараметрическому критерию хи-квадрат. При сравнении исследуемых групп было установлено, что различия по частоте развития нежелательных событий в исследуемых группах были статистически значимыми ($OR = 0,63$, 95% ДИ – 0,44–1,26, $p = 0,02$).

Также было выполнено сравнение кривых выживаемости пациентов логранговым методом. Между исследуемыми группами существуют статистически значимые различия. Сравнительный анализ логранговым методом представлен на рис. 4.

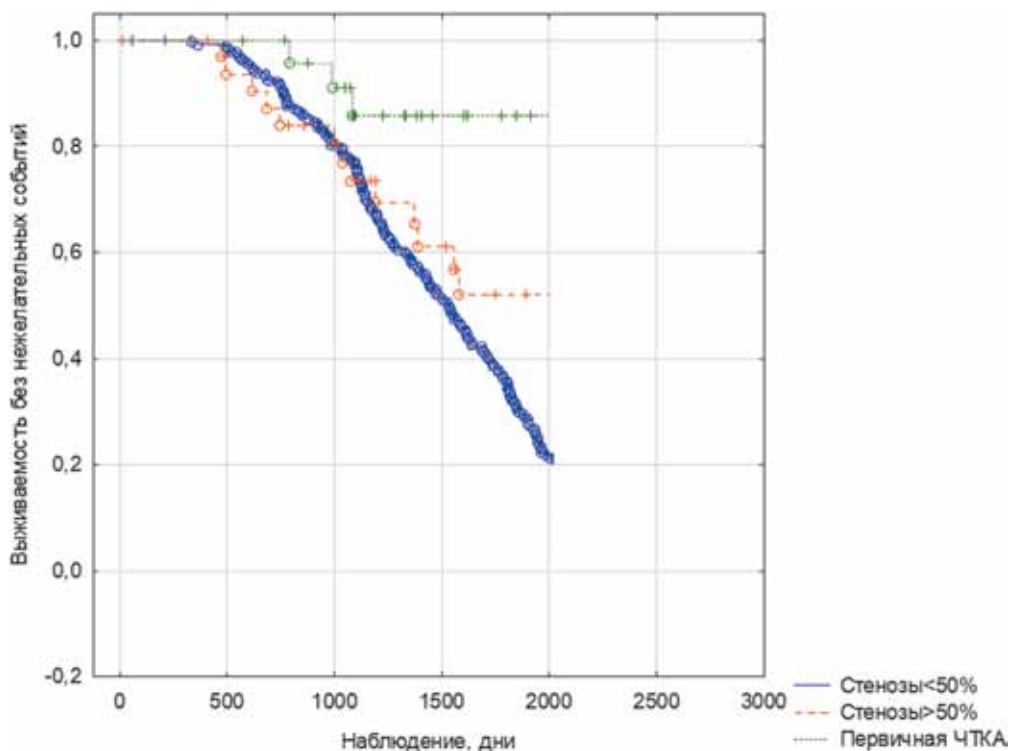


Рис. 4. Выживаемость без нежелательных событий в исследуемых группах с различным поражением коронарных артерий ($p_{\log\text{-rank}} = 0,02$)

Установлено, что у реципиентов сердца с ЧТКА, выполненной в раннем послеоперационном периоде, выживаемость без нежелательных событий достоверно выше, нежели у пациентов первых двух исследуемых групп. Это доказывает положительное влияние ЧТКА на выживаемость при развитии васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца.

Полученные в результате выполненного исследования результаты показывают, что факторами риска прогрессирования васкулопатии коронарных артерий трансплантированного сердца являются выявленные изменения атеросклеротического характера в коронарных артериях донорского сердца, возраст донора более 45 лет. Выполнение ЧТКА в первые дни после трансплантации сердца и назначение в качестве адъювантной терапии ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы снижает риск развития нежелательных событий.

Выводы

1. Частота выявления атеросклеротических изменений со стенозированием просвета коронарных артерий донорского сердца более 50% в первые дни после трансплантации сердца составляет 17,3%; коррелирует с возрастом донора и не связана с полом и причиной смерти донора.
2. У реципиентов с исходно значимым стенозированием (>50%) просвета коронарных артерий донорского сердца достоверно чаще выявляется прогрессирование изменений в коронарных артериях (61,5% против 25,4%, $p < 0,001$) и достоверно выше потребность в выполнении чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (30,8% против 12,7%, $p < 0,001$) в течение трех лет после трансплантации.
3. Частота развития нежелательных событий (смерть, повторная трансплантация сердца, необходимость выполнения чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики), а также прогрессирование изменений в коронарных артериях трансплантата в отдаленном периоде достоверно связаны с возрастом донора, наличием и степенью выраженности изменений в коронарных артериях донорского сердца.
4. Выполнение чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики в раннем послеоперационном периоде достоверно снижает риск развития нежелательных событий в течение трех лет после трансплантации сердца (ОР = 0,63, 95%, ДИ 0,44–1,26, $p = 0,02$).
5. Назначение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (статинов) на фоне иммуносупрессивной терапии приводит к достоверному снижению частоты развития нежелательных событий и частоты выявляемого прогрессирования васкулопатии коронарных артерий в течение трех лет после трансплантации; не сопровождается развитием побочных действий и изменением концентрации такролимуса в крови.

Практические рекомендации

Использование для трансплантации сердец от доноров с высокой вероятностью наличия изменений в коронарных артериях, целесообразно при благоприятной оценке соотношения риска и пользы в каждом отдельном случае.

Превентивная реваскуляризация коронарных артерий донорского сердца с значимыми стенозами (более 50%) сопровождается снижением риска нежелательных событий в течение последующих трех лет после трансплантации сердца.

Повторные коронароангиографические исследования позволяют выявить изменения коронарных артерий с течением времени и показаны всем реципиентам сердца вне зависимости от возраста, анамнеза и сопутствующих заболеваний.

Применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в качестве адъювантной терапии у реципиентов сердца эффективно снижает скорость риска развития нежелательных событий в отдаленном послеоперационном периоде и безопасно при применении совместно с комбинированной иммуносупрессивной терапией.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Внутрисосудистые методы визуализации в оценке васкулопатии трансплантированного сердца / С.А. Саховский, Н.Н. Колоскова, **А.Ю. Гончарова**, Б.Л. Миронков // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2019. – Т. XXI, № 1. – С. 165–168.
2. Выживаемость реципиентов сердца с трансмиссивным атеросклерозом коронарных артерий / С.А. Саховский, Н.Н. Колоскова, Д.А. Изотов, Е.А. Спирина, **А.Ю. Гончарова**, В.М. Лучкин, Б.Л. Миронков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение – 2019. – С. 48.
3. Коронароангиография в оценке трансмиссии атеросклероза коронарных артерий у реципиентов сердца / С.А. Саховский, Н.Н. Колоскова, Д.А. Изотов, Е.А. Спирина, **А.Ю. Гончарова**, В.М. Лучкин, Б.Л. Миронков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение – 2019. – С. 47.
4. Проблема диагностики и лечения болезни коронарных артерий пересаженного сердца / Е.А. Кальченко Е.А., **А.Ю. Гончарова**, С.А. Саховский // Диагностическая и интервенционная радиология – 2019. – Т. XIII, № 3. – С. 58–67.
5. Оценка продолжительности жизни реципиентов сердца с трансмиссивным атеросклерозом коронарных артерий / С.А. Саховский, Н.Н. Колоскова, Д.А. Изотов, Е.А. Спирина, **А.Ю. Гончарова**, В.М. Лучкин, Б.Л. Миронков // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2019. – Т. XXI, № 4. – С. 14–19.

6. Наблюдательное исследование эффективности статинов как средств профилактики нежелательных событий и прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца / А.О. Шевченко, **А.Ю. Гончарова**, Б.Л. Миронков, Н.Н. Колоскова, С.А. Саховский // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение – 2020. – С. 33.
7. Особенности клинического течения коронавирусной инфекции COVID-19 у реципиентов сердца, почки, печени: предварительные результаты национального многоцентрового наблюдательного исследования «РОККОР-реципиент» / С.В. Готье, А.О. Шевченко, О.М. Цирульников, С.М. Хомяков, О.Н. Котенко, В.Е. Виноградов, И.Н. Абызов, Г.Д. Аветисян, А.Ю. Анисимов, Л.Ю. Артюхина, М.Т. Беков, В.А. Бердинский, В.С. Богданов, А.Ю. Быков, А.Ю. Винокуров, **А.Ю. Гончарова** // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2020. – Т. XXIII, № 3. – С. 8–17.
8. Отдаленные результаты трансплантации сердца: Влияние выраженности атеросклеротических изменений донорского сердца / А.О. Шевченко, **А.Ю. Гончарова**, Б.Л. Миронков, Н.Н. Колоскова, С.А. Саховской // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение – 2020. – С. 32.

Список сокращений

АГ	– артериальная гипертензия
БКАПС	– болезнь коронарных артерий пересаженного сердца
ГКМП	– гипертрофическая кардиомиопатия
ГМГ-КоА-редуктаза	– 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент-А-редуктаза
ДКМП	– дилатационная кардиомиопатия
ДСТ	– дисфункция сердечного трансплантата
ИК	– искусственное кровообращение
ИКМП	– ишемическая кардиомиопатия
ИТ	– ишемия трансплантата
ЛПВП	– липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	– липопротеиды низкой плотности
НА	– норадреналин
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
ОТТС	– ортотопическая трансплантация сердца
ОХС	– общий холестерин
РКМП	– рестриктивная кардиомиопатия
СД	– сахарный диабет
ТГ	– триглицериды
ФВ ЛЖ	– фракция выброса левого желудочка

ФГБУ НМИЦ ТИО

им. ак. В.И. Шумакова

- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

ЧМТ

- черепно-мозговая травма

ЧТКА

- чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика

ЭКГ

- электрокардиография

ЭхоКГ

- эхокардиография

ISHLT (англ. The International Society of Heart and Lung Transplantation)

- Международное общество трансплантации сердца и легких

UNOS (англ. United Network for Organ Sharing)

- некоммерческая негосударственная научно-исследовательская организация США (Ричмонд, штат Вирджиния), занимающаяся исследованиями и образовательной деятельностью в области трансплантации органов

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СЕРДЦА ПАЦИЕНТАМ С ПРЕДТРАНСПЛАНТАЦИОННОЙ ВЕНО-АРТЕРИАЛЬНОЙ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ МЕМБРАННОЙ ОКСИГЕНАЦИЕЙ

Догонашева А.А., 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

Трансплантация сердца (ТС) остается наиболее эффективным методом радикального лечения пациентов с терминальной застойной сердечной недостаточностью (ЗСН) [Шумаков В.И., 2006]. В последние годы количество ежегодно выполняемых трансплантаций сердца существенно не изменилось несмотря на скачкообразный рост количества пациентов, нуждающихся в ее выполнении [Lee J.H., 2016]. Во многом это связано с отсутствием должного прироста донорского пула [Medved D., 2017]. В условиях недостатка донорских органов краткосрочная или длительная механическая поддержка кровообращения способна обеспечить эффективную коррекцию грубых нарушений системной гемодинамики и органной функции у пациентов с застойной сердечной недостаточностью и создать клинические и организационные возможности для последующего успешного выполнения трансплантации сердца и уменьшения смертности потенциальных реципиентов на этапе ее ожидания [Ухренков С.Г., 2017; Lee J.H., 2016].

В последнее десятилетие ведущим методом механической поддержки кровообращения (МПК) у пациентов с необратимой застойной сердечной недостаточностью, многие из которых являются потенциальными реципиентами сердца, стали имплантируемые системы длительного моно- или бивентрикулярного обхода сердца, прежде всего левожелудочкового обхода (ЛЖО) [Попцов В.Н., 2017]. Однако эффективное применение имплантируемого левожелудочкового обхода возможно только в условиях отсутствия клинически значимой дисфункции правого желудочка и стабильного предоперационного статуса пациента [Deschka H., 2016]. В свя-

зи с чем у пациентов с критическими расстройствами гемодинамики и/или нарушениями насосной функции обоих желудочков сердца бивентрикулярная механическая поддержка кровообращения остается единственным методом жизнесохранения [John R., 2010].

Краткосрочная бивентрикулярная механическая поддержка кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации (ВА ЭКМО) способна обеспечить быструю коррекцию гемодинамических, газообменных, метаболических и полиорганных нарушений у пациентов с критическими проявлениями острой или декомпенсации хронической сердечной недостаточности [Barth E., 2012]. Отдельные трансплантационные центры успешно применяют вено-артериальную экстракорпоральную мембранную оксигенацию для предтрансплантационной механической поддержки кровообращения у потенциальных реципиентов, нуждающихся в неотложной трансплантации сердца [Uil C.A. Den, 2017].

Однако многие аспекты использования технологии вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации для предтрансплантационной механической поддержки кровообращения требуют дальнейшего изучения с целью повышения результативности ее применения у потенциальных реципиентов сердца [Olsson K.M., 2010]. Прежде всего, необходимо дальнейшее углубленное изучение влияния предтрансплантационной механической поддержки кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации на непосредственные и отдаленные результаты трансплантации сердца, определение спектра возможных осложнений и разработка мер, направленных на профилактику их возникновения.

В последние годы 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») возросла роль вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации в качестве метода краткосрочной механической поддержки кровообращения у пациентов, нуждающихся в неотложной трансплантации сердца. Назрела необходимость глубокого и всестороннего анализа результативности применения вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации при подготовке и выполнении трансплантации сердца у данной группы реципиентов сердца.

Цель исследования

Оценить влияние предтрансплантационной краткосрочной механической поддержки кровообращения методом периферической вено-артери-

альной экстракорпоральной мембранной оксигенации на непосредственные результаты трансплантации сердца.

Задачи исследования

1. Изучить предтрансплантационный статус реципиентов с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией.
2. Оценить характеристики донора сердца при трансплантации пациентам с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией.
3. Выявить особенности течения интраоперационного периода при трансплантации сердца реципиентам с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией.
4. Оценить ранний период после трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией.
5. Выявить факторы, негативно влияющие на результаты трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией.

Научная новизна

На основании собственного многочисленного опыта (239 трансплантаций сердца) впервые подробно изучен характер восстановления насосной функции сердечного трансплантата при неотложной трансплантации сердца у реципиентов с краткосрочной предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией. Впервые подробно проанализирован интраоперационный и ранний послеоперационный периоды при трансплантации у реципиентов с краткосрочной предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией. Продемонстрирована возможность последовательного применения периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации как метода краткосрочной предтрансплантационной механической поддержки кровообращения и метода механической поддержки насосной функции

сердечного трансплантата после неотложной трансплантации от доноров с расширенными критериями.

Выявлен спектр и частота возникновения неинфекционных и инфекционных осложнений, ассоциированных с применением краткосрочной механической поддержки кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации перед неотложной трансплантацией сердца. На основании подробного анализа периоперационного периода выявлены факторы риска неблагоприятного исхода трансплантации сердца у пациентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией.

Практическая значимость

Выявление факторов, негативно влияющих на раннюю выживаемость, позволит определить риск выполнения неотложной трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией и методы их профилактики.

Методология и методы исследования

В предтрансплантационном, раннем и отдаленном посттрансплантационном периодах использовали комплекс диагностических методов оценки восстановления сердечного трансплантата и состояния пациентов, в том числе исследование центральной гемодинамики (инвазивное исследование артериального давления, центрального венозного давления, давления легочной артерии и давления заклинивания легочной артерии, сердечного выброса и сердечного индекса методом термодилуции), коронарография, эндомиокардиальная биопсия, эхокардиография, лабораторные исследования (общий анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, анализ кислотно-щелочного равновесия и анализ газов крови), аускультация и, при необходимости, спиральная компьютерная томография. Для оценки полученных результатов использовались методы статистической обработки результатов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Применение предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации позволяет снизить смертность в листе ожидания, создать условия для восстановления органной функции, и, таким образом, повысить результативность трансплантации сердца реципиентам, нуждающимся в неотложной трансплантации сердца.

2. Выполнение трансплантации сердца у пациентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией сопровождается более выраженной кровопотерей и органной дисфункцией, постепенно регрессирующей после трансплантации сердца.
3. Пролонгирование предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации в послеоперационном периоде позволяет использовать для пересадки сердца от доноров с расширенными критериями, при которой повышен риск возникновения ранней дисфункции сердечного трансплантата.
4. Выявленные факторы риска, негативно влияющие на раннюю выживаемость, позволяют определить риск выполнения неотложной трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией и методы их профилактики.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов обусловлена объемом выборки: 877 реципиентов сердца, из них 239 реципиентов сердца с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией и 638 реципиентов контрольной группы без механической поддержки кровообращения в предтрансплантационном периоде. Основные показатели рассчитывались современными методами 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.).

Апробация работы состоялась 10 июля 2020 года на заседании объединенной научной конференции сотрудников клинических, экспериментальных отделений и лабораторий 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). Основные положения и результаты диссертации были доложены и обсуждены на III Российском Национальном Конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (2–4 октября 2017 года, г. Москва), IV Всероссийском съезде трансплантологов (17–19 сентября 2018 года, г. Москва), The 26th

Annual Meeting of the Asian for Cardiovascular and Thorac Surgery (Москва 24–27 мая 2018 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенного исследования внедрены в клиническую практику отделения анестезиологии-реанимации Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в лекционный курс 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).

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 877 пациентов, которым была выполнена ортотопическая трансплантация сердца (ОТС) в период 2011–2018 гг. Из них 742 (84,6%) мужчин и 135 (15,4%) женщин в возрасте от 10 до 78 лет (в среднем $46,5 \pm 13,1$ лет), весом $78,4 \pm 19,1$ кг, с индексом массы тела – $27,1 \pm 1,7$ кг/м². Группа крови пациентов: 0 (I) – n = 226 (25,8%), A (II) – n = 343 (39,1%), B (III) – 216 (24,6%), AB (IV) – n = 92 (10,5%).

Все пациенты были разделены на две группы в зависимости от использования краткосрочной МПК методом ВА ЭКМО в предтрансплантационном периоде. Таким образом, в **основную группу** было включено 239 реципиентов, потребовавших применения ВА ЭКМО в предтрансплантационном периоде, в **контрольную группу** – 638 реципиентов, не потребовавших МПК в перед ОТС.

Терминальная ЗСН, потребовавшая выполнения ТС, развивалась в исходе следующих основных групп заболеваний: дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) (n = 471; 53,7%), ишемическая болезнь сердца (n = 349; 39,8%), гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) (n = 16; 1,8%), врожденные пороки сердца (n = 9; 1,0%), рестриктивная кардиомиопатия (n = 8; 0,9%), необратимая дисфункция сердечного трансплантата (n = 24; 2,7%).

Всем потенциальным реципиентам выполнялось комплексное клиническое, лабораторное и инструментальное предоперационное обследование.

В данной работе оценивались характеристики 877 доноров сердца, возрастом от 18 до 73 лет ($43,6 \pm 11,5$), весом от 40 до 200 кг ($82,6 \pm 17,3$), из которых 672 (76,6%) были мужчинами и 205 (23,4%) – женщинами. Основной причиной смерти сердечных доноров явилось нетравматическое поражение головного мозга ($n = 517$, 59,0%). СЛР перенесли 32 донора сердца (3,7%). Продолжительность ИВЛ и пребывания в ОРИТ составила от 0,5 до 11 суток ($2,5 \pm 1,8$). Уровень гемоглобина крови сердечных доноров составил $11,5 \pm 3,1$ г/дл, общего белка $61,1 \pm 12,7$ г/л, натрия крови 148 ± 12 ммоль/л. Инотропная поддержка допамином $7,9 \pm 5,0$ мкг/кг/мин потребовалась 249 (28,4%) сердечным донорам. Вазопрессорная поддержка норадреналином 325 ± 20 нг/кг/мин потребовалась 498 (56,8%) донорам сердца. ФИЛЖ $62,8 \pm 18,2\%$ доноров (от 93 до 25%). При этом ФИЛЖ менее 50% наблюдалась у 68 (7,8%) доноров сердца. Нарушения локальной сократимости левого желудочка обнаружено у 59 (6,7%) сердечных доноров, диффузный гипокинез – у 34 (3,9%) реципиентов.

При трансплантации сердца использовались следующие методики: бикавальная (67,7%), биатриальная (27,9%), комбинированная (4,4%). Во всех случаях применялась многокомпонентная общая анестезия.

В данной работе оценивались следующие характеристики интраоперационного и раннего послеоперационного периодов основной и контрольной групп: время искусственного кровообращения ($127,1 \pm 46,0$ мин), время ишемии сердечного трансплантата ($170,3 \pm 60,7$ мин), уровень гипотермии во время ИК ($33,1 \pm 3,2$ °C), внутрисосудистый гемолиз ($186,4 \pm 73,7$ мг%), потребность в ЗПТ (25,3%), потребность в инотропной поддержке (100%), потребность в МПК методом ВА ЭКМО в раннем послеоперационном периоде (32,2% реципиентов сердца) и ее продолжительность ($3,2 \pm 2,7$ дней), объемы кровопотери (1000 ± 80 мл) и инфузионно-трансфузионной терапии (1200 ± 60 мл эритроцитарной взвеси), использование аппарата для аутогемотрансфузии (16,7%), время послеоперационной ИВЛ (0–107 суток), а также основные лабораторные показатели органной функции и эхокардиографические данные и показатели центральной гемодинамики для оценки функции сердечного трансплантата.

Для инотропной поддержки использовались такие препараты как допамин, добутамин, адреналин и несимпатомиметический кардиотоник левосимендан. Для вазопрессорной поддержки использовали норадреналин и фенилэфрин (мезатон). При выраженной легочной гипертензии использовалась инсуффляция оксида азота и ингибитор фосфодиэстеразы типа 5 силденафил.

Механическая поддержка кровообращения проводилась методом вено-артериальной мембранной оксигенации аппаратами «Bio-consol 560 Medtronic» и «Maquet Rotaflow». Во всех описанных случаях применялась периферическая методика канюляции, открытая у 14 (5,9%) пациентов, пункционная у 225 (94,1%) пациентов. В 100% наблюдений обеспечива-

ли дополнительную перфузию нижней конечности. Размер артериальной канюли составлял от 15 до 19 Fr, венозной канюли от 23 до 30 Fr. Параметры ВА ЭКМО были следующими: производительность насоса крови $2,2 \pm 0,5$ л/мин/м², количество оборотов центрифужного насоса 3208 ± 376 в минуту, поток кислородно-воздушной смеси $4,4 \pm 0,9$ л/мин, фракция поступаемого кислорода (FiO_2) $0,99 \pm 0,04$.

Определение острого почечного повреждения осуществлялось при помощи критериев AKIN (2007 г.). ЗПТ проводилась непрерывным и интермиттирующим методами.

Степень поражения при болезни коронарных артерий пересаженного сердца определялась по классификации, предложенной S.Z. Gao и соавт. в 1988 г. На 5–7 сутки выполнялась первая эндомиокардиальная биопсия, в течение первого года каждые 3 месяца, и далее один раз в год, либо при наличии клинических показаний.

Статистическая обработка данных исследования выполнялась нами при помощи электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ Statistica for Windows 7.0 (Start Soft Inc. США), Biostat и SPSS. Для определения нормальности распределения применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Для сравнения частот бинарного исхода использовали хи-квадрат Пирсона. Сравнение средних величин производили с помощью Mann–Whitney U-test или Student's t-test. Достоверным считали различие $p < 0,05$. Для определения факторов риска летального исхода использовался однофакторный анализ путем оценки отношения шансов (OddsRatio – OD), достоверность результатов оценивалась с помощью теста Фишера. Границами для определения факторов риска определялись второй и третий квартили распределения, соответственно заданным значениям. Выживаемость отражена кривыми Каплана–Майера.

Результаты исследования

Доля реципиентов сердца с предтрансплантационной ВА ЭКМО составила 7,7% (2011 г.) до 41,7% (2015 г.).

В приведенном исследовании предтрансплантационный статус реципиентов не отличался по основным антропометрическим показателям, однако пациенты, потребовавшие предтрансплантационной МПК, отличались меньшим индексом массы тела ($25,1 \pm 5,1$ кг/м² против $26,2 \pm 4,9$ кг/м², $p = 0,004$) и в 2,1 раза большей частотой астенизации (8,0% против 3,9%, $p = 0,017$). Декомпенсация ЗСН на фоне ДКМП (61,5% реципиентов сердца) чаще приводила к необходимости имплантации ВА ЭКМО в сравнении с другими нозологиями. Все реципиенты с предтрансплантационной ВА ЭКМО страдали ХСН 3 стадии, 4 функционального класса, неотложность ТС соответствовала статусу UNOS 1A.

Предтрансплантационный период реципиентов, потребовавших ВА ЭКМО до трансплантации, отличался достоверно более выраженными расстройствами гемодинамики, в частности, низким уровнем АД ($p < 0,0001$), высокой ЧСС ($p < 0,0001$), высоким уровнем ДПП ($p < 0,0001$), высокой легочной гипертензией ($p < 0,0001$), низким сердечным индексом ($p < 0,0001$). При эхокардиографическом исследовании выявлены более ($p < 0,05$) выраженные признаки дилатации камер сердца и дистрофии стенок левого желудочка, а также меньшая ФИЛЖ ($p < 0,0001$) и большая степень регургитации на митральном и трикуспидальном клапанах сердца ($p < 0,0001$) в сравнении с реципиентами без предтрансплантационной МПК. При предтрансплантационном лабораторном исследовании как на момент включения в лист ожидания, так и непосредственно перед ТС у реципиентов основной группы выявлена более выраженная склонность к анемии, тромбоцитопении, а также к полиорганной дисфункции, в частности почечной дисфункции ($p < 0,0001$), печеночной дисфункции, нарушениям в системе гемостаза. Таким образом, для реципиентов, потребовавших ВА ЭКМО перед ТС, более характерна полиорганная дисфункция в предтрансплантационном периоде ($9,2 \pm 2,1$ баллов по шкале SOFA против $5,4 \pm 2,4$ балла, $p < 0,0001$), табл. 1.

При этом непосредственно перед трансплантацией сердца у пациентов с печеночной дисфункцией отмечено достоверное снижение печеночных трансаминаз и снижение уровня билирубина на фоне применения ВА ЭКМО.

Также отмечалось снижение уровня гемоглобина и тромбоцитов к моменту ТС у пациентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО ($126,6 \pm 72,6 \times 10^9/\text{л}$ на момент включения в лист ожидания и $72,3 \pm 33,8 \times 10^9/\text{л}$ непосредственно перед ТС).

Трансплантация сердца реципиентам с предтрансплантационной ВА ЭКМО выполнялась от доноров более старшей возрастной группы в сравнении с контрольной группой ($p < 0,0001$). Доноры сердца в основной группе требовали более частой ($p = 0,004$) и больших ($p = 0,0005$) доз инотропной поддержки допамином в сравнении с донорами сердца для реципиентов без предтрансплантационной МПК. Также для ТС реципиентам с предтрансплантационной ВА ЭКМО использовали сердца от доноров с более выраженной гипертрофией миокарда (толщина МЖП и задней стенки левого желудочка были достоверно больше у доноров основной группы), в том числе 31,8% сердец были пересажены от доноров с МЖП $\geq 1,5$ см ($p < 0,05$).

Общий суммарный балл по шкале Eurotransplant Donor Heart Score был выше в основной группе ($25,8 \pm 13,5$ баллов против $22,8 \pm 15,3$ баллов, $p = 0,008$).

Таблица 1

**Показатели центральной гемодинамики ($M \pm \sigma$),
эхокардиографического и лабораторного дотрансплантационного
исследования в основной и контрольной группах ($n = 877$)
на момент включения в лист ожидания**

Показатель	Реципиенты сердца ($n = 877$)		[t]/Хи-квадрат	p-value
	С предтрансплантационной ВА ЭКМО ($n = 239$)	Без предтрансплантационной ВА ЭКМО ($n = 638$)		
АДср., мм рт. ст.	$75,1 \pm 11,7$	$79,1 \pm 13,2$	4,118	<0,0001
ЧСС, 1/мин	$93,3 \pm 20,9$	$80,9 \pm 18,3$	8,586	<0,0001
ДПП, мм рт. ст.	$12,2 \pm 6,9$	$7,9 \pm 5,1$	10,041	<0,0001
СДЛА, мм рт. ст.	$47,1 \pm 14,2$	$42,0 \pm 16,0$	4,330	<0,0001
СВ, л/мин	$3,2 \pm 1,1$	$3,7 \pm 1,1$	5,994	<0,0001
СИ, л/мин/м ²	$1,7 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,5$	5,274	<0,0001
ЛСС, ед. Вуда	$3,3 \pm 2,2$	$2,8 \pm 1,7$	3,565	0,0004
ФИЛЖ, %	$21,4 \pm 8,6$	$27,1 \pm 10,3$	7,618	<0,0001
МЖП, см	$0,95 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,2$	3,695	0,0002
Мочевина, ммоль/л				
лист ожидания	$11,6 \pm 5,8$	$8,1 \pm 3,3$	11,168	<0,0001
перед ТС	$10,9 \pm 6,1$	$8,5 \pm 3,1$	7,649	<0,0001
Креатинин, мкмоль/л				
лист ожидания	$119,9 \pm 63,6$	$97,2 \pm 33,1$	6,871	<0,0001
перед ТС	$107,8 \pm 56,6$	$92,4 \pm 35,4$	4,808	<0,0001
Общий билирубин, мкмоль/л				
лист ожидания	$51,2 \pm 36,2$	$28,9 \pm 22,2$	10,995	<0,0001
перед ТС	$45,3 \pm 38,2$	$32,4 \pm 25,8$	5,729	<0,0001
АЛТ, МЕ/л				
лист ожидания	$99,6 \pm 424,2$	$37,6 \pm 61,6$	3,595	0,0003
перед ТС	$46,3 \pm 145,2$	$39,8 \pm 58,2$	0,9465	0,3442
АСТ, МЕ/л				
лист ожидания	$116,5 \pm 611,8$	$31,5 \pm 37,8$	3,495	0,0005
перед ТС	$48,3 \pm 125,4$	$42,1 \pm 36,4$	1,129	0,2591
МНО				
лист ожидания	$1,58 \pm 0,37$	$1,30 \pm 0,35$	10,384	<0,0001
перед ТС	$1,8 \pm 0,42$	$1,4 \pm 0,38$	13,480	<0,0001

Характеристика интраоперационного и раннего послеоперационного периода у пациентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией

Интраоперационный период при ТС реципиентам основной группы сопровождался более выраженной кровопотерей (до 25 000 мл), массивной гемотрансфузией (до 12 000 мл СЗП, до 7600 мл эритроцитарной взвеси), частой потребностью в ранней рестернотомии (36,0% в сравнении с 5,3% основной группы, $p < 0,0001$). Время искусственного кровообращения, ишемии миокарда, интраоперационного гемолиза не различалось в обеих группах ($p > 0,05$).

В целом, независимо от характера восстановления первичной функции пересаженного сердца, потребность в меньших дозировках допамина ($6,0 \pm 3,0$ мкг/кг/мин против $7,1 \pm 3,2$ мкг/кг/мин, $p < 0,0001$) и адреналина ($40 \pm 2,9$ нг/кг/мин против $47 \pm 1,3$ нг/кг/мин, $p = 0,002$) в раннем послеоперационном периоде была в основной группе, что может быть связано с пролонгированным применением ВА ЭКМО после ТС.

Тяжелая ранняя дисфункция сердечного трансплантата, требующая МПК, чаще наблюдалась у реципиентов основной группы (23,4% в сравнении с 12,9% в контрольной, $p = 0,0002$). Риск развития тяжелой ранней дисфункции сердечного трансплантата достоверно возрастал при трансплантации сердца от доноров с расширенными критериями (EDHS ≥ 17 баллов), табл. 2.

В раннем послеоперационном периоде чаще наблюдалась почечная недостаточность, требующая заместительной почечной терапии, печеночная недостаточность, а также дыхательная недостаточность, требующая длительной ИВЛ. Однако наличие органной дисфункции было связано, в том числе с предшествующими трансплантации сердца поражениями органов. В течение 5 дней после трансплантации сердца отмечалось восстановление функции печени у большинства реципиентов.

Летальность в основной группе была выше, чем в контрольной (19,7% против 6,7%). Однако частота развития летального исхода у реципиентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО была сравнима с летальностью реципиентов без предтрансплантационной МПК со статусом неотложности ТС UNOS 1A (19,7 и 20,0% соответственно). При этом реципиенты основной группы отличались от указанной группы реципиентов более выраженной органной дисфункцией в предтрансплантационном периоде (SOFA $9,2 \pm 2,1$ против $6,1 \pm 1,8$ баллов; $p < 0,0001$), а также более выраженным нарушением систолической функции левого желудочка (ФИЛЖ $21,4 \pm 8,6\%$ против $29,2 \pm 13,2\%$; $p = 0,0002$).

Летальность реципиентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО с тяжелой ранней дисфункцией сердечного трансплантата составила 46,4% (против 30,5% у реципиентов с тяжелой ранней дисфункцией сердечно-

Таблица 2

**Сравнительная характеристика течения раннего
послеоперационного периода в основной и контрольной группах
(n = 877)**

Показатель	С предтранс- плантационной ВА ЭКМО (n = 239)	Без предтранс- плантационной ВА ЭКМО (n = 638)	[t]	p-value
Суммарная кровопотеря, мл	6023 ± 3840	1543 ± 1125	26,599	<0,0001
Суммарное количество, мл:				
Эритромаасса	3150 ± 1585	1285 ± 844	22,431	<0,0001
СЗП	5630 ± 2374	1930 ± 1106	31,339	<0,0001
Тромбомаасса	556 ± 82	210 ± 105	45,957	<0,0001
ВА ЭКМО после ОТТС >3 дней (n/%)	56/23,4	82/12,9	14,922©	0,0001
Заместительная почечная терапия (n/%)	120/50,2	202/31,7	24,951©	<0,0001
ИВЛ, часов	11 ± 7,4*	8 ± 3*	22447*	<0,0001
Трахеостомия (n/%)	44/18,4	40/6,3	28,204©	<0,0001
Лейкоциты (max), ×10 ⁹ /л	18,4 ± 6,3	20,4 ± 8,3	3,378	0,0008
Тромбоциты (min), ×10 ⁹ /л	56,1 ± 32,8	88,7 ± 42,1	10,804	<0,0001
Гемоглобин (min), г/дл	7,8 ± 1,5	8,6 ± 2,1	5,395	<0,0001
Общий белок (min), г/л	60,3 ± 6,6	62,4 ± 6,6	4,196	<0,0001
Мочевина (max), ммоль/л	20,5 ± 15,2	16,1 ± 7,3	5,755	<0,0001
Креатинин (max), мкмоль/л	151,9 ± 91,5	149,1 ± 77,0	0,455	0,650
Общий билирубин (max), мкмоль/л	77,8 ± 7,3*	38,2 ± 3,7*	9155*	<0,0001
АЛТ (max), Ед./л	41,0 ± 28,3*	41,4 ± 26,4*	23330*	0,997
АСТ (max), Ед./л	125,0 ± 43,8*	148,0 ± 41,8*	19789*	0,009
ПИ (min)	66,3 ± 9,9	70,7 ± 9,8	5,904	<0,0001
МНО (max)	1,60 ± 0,32	1,46 ± 0,25	6,816	<0,0001
Летальный исход (n/%)	47/19,7	43/6,7	30,157©	<0,0001
Продолжительность лечения в ОРИТ, сутки	7,2 ± 3,9	4,6 ± 2,1	12,648	<0,0001

го трансплантата без предтрансплантационной ВА ЭКМО). Госпитальная летальность, не связанная с тяжелой ранней дисфункцией, составила 8,8% у реципиентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО (против 2,8% в контрольной группе, $p = 0,0003$) и была главным образом обусловлена развитием органной недостаточности: дыхательной (18,4%), почечной (50,2%) и/или печеночной (17,2%), инфекционными осложнениями (17,6%).

Осложнения у реципиентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией, связанные с ее применением

В проведенном исследовании, количество массивных кровопотерь у реципиентов сердца с предтрансплантационной ВА ЭКМО составило 50,6%, которым потребовалась значимая гемотрансфузия. Ишемии нижних конечностей наблюдались в 8 случаях. Неврологические осложнения, непосредственно связанные с применением ВА ЭКМО, наблюдались у одного реципиента (0,4%). Отек легких и потребность в разгрузке левого желудочка до ТС возникла в 14,2% случаев.

Основными методами профилактики осложнений являются: лабораторный контроль показателей гемостаза; обеспечение дополнительной перфузии нижней конечности с установленной артериальной канюлей; поддержание остаточной функции левого желудочка инотропными препаратами, использованием минимально необходимой производительности ВА ЭКМО, и, при необходимости, использовании методов разгрузки левого желудочка; контроль оксигенации методом пульсоксиметрии и анализа газов крови правой лучевой артерии.

Факторы риска неблагоприятного исхода трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией

При исследовании выявлены следующие достоверные предтрансплантационные факторы риска неблагоприятного исхода при ТС реципиентам с предтрансплантационной ВА ЭКМО: почечная недостаточность (мочевина ≥ 10 ммоль/л, креатинин ≥ 120 ммоль/л), печеночная недостаточность (общий билирубин ≥ 65 мкмоль/л, АСТ ≥ 60 ЕД./л), лейкоцитоз $\geq 10 \times 10^9$ /л.

При сравнении доноров сердца в группе выживших и умерших реципиентов не выявлено достоверных различий в основных данных анамнеза, параметрах гемодинамики, лабораторных и эхокардиографических исследований. Однако отмечено, что трансплантация сердца от доноров с EDHS ≥ 17 баллов является фактором риска посттрансплантационной дисфункции сердечного трансплантата и необходимости пролонгирова-

ния ВА ЭКМО более 3 суток (Отношение шансов 1,884, ДИ 1,028–3,456, $p = 0,0461$).

При анализе полученных данных выявлены следующие периоперационные факторы риска неблагоприятного исхода у реципиентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО: почечная недостаточность (креатинин ≥ 180 ммоль/л, потребность в ЗПТ), печеночная недостаточность (общий билирубин ≥ 120 мкмоль/л, АЛТ ≥ 82 ЕД./л, АСТ ≥ 214 ЕД./л, ПИ $\leq 61\%$, МНО $\geq 1,69$), инфекционные осложнения (наличие пневмонии, прокальцитонин $\geq 3,0$), гемолиз ≥ 220 мг%, дисфункция сердечного трансплантата и сосудистая недостаточность (инотропно-вазопрессорный индекс > 18 , потребность в норадреналине), массивная кровопотеря и гемотрансфузия (периоперационная кровопотеря ≥ 5000 мл, потребность в эритроцитарной взвеси ≥ 2400 мл), дыхательная недостаточность (потребность в трахеостомии).

В настоящее время МПК методом ВА ЭКМО является единственным методом жизнеобеспечения у пациентов при отсутствии возможности использования имплантированных систем длительного бивентрикулярного и левожелудочкового обхода, обеспечивающим поддержку кровообращения у пациентов с декомпенсированной сердечной недостаточностью и полиорганной дисфункцией, стабилизируя гемодинамику и подготавливая пациентов к ТС. Результаты ТС у реципиентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО оказались достоверно хуже, чем у реципиентов со стабильным предтрансплантационным киническим статусом. В определенной степени это было связано с более тяжелым предтрансплантационным состоянием реципиентов, невозможности за время непродолжительной предтрансплантационной МПК в большей степени нормализовать органную функцию и гомеостаз в целом. Однако, несмотря на то, что результаты ТС у данной группы реципиентов были хуже, сами показатели отдаленной выживаемости мы считаем удовлетворительными с учетом всех выше перечисленных факторов риска. В арсенале врачей трансплантологов, занимающихся подготовкой реципиентов для ТС должны быть как методы краткосрочной, так и длительной МПК, чтобы обеспечить выбор наиболее эффективного метода МПК у конкретного пациента.

Выводы

1. Доля трансплантаций сердца у реципиентов с краткосрочной предтрансплантационной механической поддержкой кровообращения методом периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации составила 26,9%. Реципиенты с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией характеризовались более ($p < 0,05$) выраженными клиническими, лабораторными и/или инструментальными

проявлениями хронической сердечной недостаточности, предтрансплантационной легочной гипертензии и полиорганной дисфункции как на этапе включения в лист ожидания, так и непосредственно перед трансплантацией сердца по сравнению с реципиентами, не нуждавшимися в предтрансплантационной механической поддержке кровообращения. По выраженности сопутствующей патологии и доле ранее выполненных кардиохирургических операций на открытой грудной клетке (6,7% против 5,3%) реципиенты достоверно не отличались.

2. Большой суммарный балл по шкале Eurotransplant Donor Heart Score ($25,8 \pm 13,5$ балла против $22,8 \pm 15,3$ балла, $p = 0,008$) указывал на то, что критерии донорства были существенно расширены для трансплантации сердца реципиентам с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией по сравнению с реципиентами, не нуждавшимися в механической поддержке кровообращения до трансплантации.
3. Отличительной особенностью интраоперационного периода у реципиентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией явилась более выраженная ($p < 0,05$) кровопотеря, потребность в массивной гемотрансфузии, а также большая частота ранних рестернотомий (в 6,8 раза или у 36,0% реципиентов) в связи с нарушениями тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза в предтрансплантационном периоде.
4. В раннем послеоперационном периоде у реципиентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией были больше ($p < 0,05$): частота возникновения тяжелой ранней дисфункции сердечного трансплантата (в 1,8 раза или у 23,4% реципиентов), суммарная кровопотеря (в 3,9 раза), потребность в проведении заместительной почечной терапии (в 1,6 раза или у 50,2% реципиентов), продолжительность послеоперационной ИВЛ и лечения в условиях ОРИТ ($7,2 \pm 3,9$ дней против $4,6 \pm 2,1$ дней). Госпитальная выживаемость реципиентов сердца с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией составила 80,3%.
5. Определены достоверные факторы риска, позволяющие прогнозировать отягощенное течение и летальный исход после трансплантации сердца у реципиентов с предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенацией. Предтрансплантационными факторами риска неблагоприятного исхода у реципиентов с предтрансплантационной ВА ЭКМО явились почечная дисфункция (уровень мочевины ≥ 10 ммоль/л, креатинина ≥ 120 ммоль/л), печеночная дисфункция (уровень общего

билирубина ≥ 65 мкмоль/л, АСТ ≥ 60 Ед./л), лейкоцитоз $\geq 10 \times 10^9$ /л. Периперационные факторы риска неблагоприятного исхода: периперационная кровопотеря ≥ 5000 мл, интраперационная потребность в эритроцитарной взвеси ≥ 2400 мл, интраперационный гемолиз ≥ 220 мг%, почечная дисфункция (потребность в заместительной почечной терапии, уровень креатинина ≥ 180 мкмоль/л), печеночная дисфункция (уровень общего билирубина ≥ 120 мкмоль/л, АЛТ ≥ 82 Ед./л, АСТ ≥ 214 Ед./л, ПИ $\leq 61\%$, МНО $\geq 1,69$), необходимость продленной ИВЛ и трахеостомии, дисфункция сердечного трансплантата, требующая продления ВА ЭКМО >3 суток после трансплантации сердца, сосудистая недостаточность, требующая инфузии норадреналина, инотропно-вазопрессорный индекс >18 , инфекционные осложнения, в том числе пневмония (прокальцитонин $\geq 3,0$).

Практические рекомендации

1. Для краткосрочной механической поддержки кровообращения у потенциальных реципиентов сердца, нуждающихся в неотложной трансплантации, целесообразно применять периферическую вено-артериальную экстракорпоральную мембранную оксигенацию с целью обеспечения эффективной коррекции жизнеугрожающих гемодинамических, газообменных, метаболических и/или полиорганных нарушений, развившихся на фоне терминальной сердечной недостаточности и создания условий для результативного выполнения последующей пересадки сердца.
2. При подготовке и выполнении трансплантации сердца у пациентов с краткосрочной механической поддержки кровообращения методом периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации необходимо учитывать более частое выполнение неотложной пересадки сердца от доноров с расширенными критериями, что увеличивает риск возникновения ранней дисфункции сердечного трансплантата и отягощенного течения раннего посттрансплантационного периода.
3. Перед началом оперативного вмешательства по трансплантации сердца необходимо низвести бедренную венозную канюлю для избежания интерференции с венозной канюлей контура искусственного кровообращения приблизительно до уровня 30–35 см от дистального кончика канюли.
4. В случае сочетания вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации с одновременным чрескожным трансвенозным дренированием левого предсердия (декомпрессия левых отделов) дополнительная венозная разгрузочная канюля перемещается

- из полости левого предсердия в нижнюю полую вену ниже уровня установки венозной канюли контура искусственного кровообращения. В таком случае дренаж венозной крови в контур вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации будет осуществляться по основной и дополнительной венозным канюлям.
5. Во избежание аспирации воздуха в контур периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации перед канюляцией верхней и нижней полых вен необходимо накладывать магистральные зажимы на венозные канюли контура искусственного кровообращения.
 6. Во время искусственного кровообращения кровотоков по контуру вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации достаточно поддерживать на уровне 0,5–1,0 л/мин при одновременном уменьшении объемной скорости кровотока по контуру искусственного кровообращения на ту же величину для предупреждения феномена гиперперфузии.
 7. Для профилактики возникновения непреднамеренной гипервентиляции во время сочетанного применения периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации и искусственного кровообращения необходимо четко контролировать объемную скорость подачи проточного газа как в мембранный оксигенатор контура вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации, так и мембранный оксигенатор контура искусственного кровообращения.
 8. Применение предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации предполагает больший объем периоперационной кровопотери и большую потребность в заместительной гемотрансфузионной терапии.
 9. Продолжение применения предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации после трансплантации сердца позволяет сократить этап параллельного кровообращения приблизительно на 40 мин и тем самым уменьшить травматичность и суммарную продолжительность искусственного кровообращения.
 10. Несмотря на отсутствие значимых проявлений ранней дисфункции сердечного трансплантата, использование предтрансплантационной вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации целесообразно пролонгировать в раннем посттрансплантационном периоде протективном режиме с объемной скоростью экстракорпорального кровотока 1,0–1,5 л/мин в течение первых 1–2 послеоперационных суток.
 11. При возникновении грубых нарушений насосной функции пересаженного сердца предтрансплантационную вено-артериальную экс-

тракорпоральную мембранную оксигенацию следует использовать для коррекции гемодинамических нарушений, обусловленных ранней дисфункцией сердечного трансплантата. В этом случае объемная скорость экстракорпорального кровотока зависит от выраженности расстройств системной гемодинамики.

12. Возможность использования одного и того же метода краткосрочной механической поддержки кровообращения (периферическая вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация) до и после трансплантации сердца создает организационные условия для результативного выполнения неотложной пересадки сердца от доноров с расширенными критериями, при которой повышен риск возникновения ранней, но в большинстве случаев обратимой, дисфункции сердечного трансплантата.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Попцов В.Н., Захаревич В.М., Спирина Е.А., Ухренков С.Г., **Догонашева А.А.**, Алиев Э.З. Результативность и факторы риска механической поддержки кровообращения методом периферической вено-артериальной экстракорпоральной мембранной оксигенации у потенциальных реципиентов, нуждающихся в неотложной трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19 (4). – С. 54–60.
2. Попцов В.Н., Спирина Е.А., Ухренков С.Г., Бондаренко Д.М., **Догонашева А.А.**, Алиев Э.З. Временная механическая поддержка кровообращения у потенциальных реципиентов сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19 (4). – С. 13–123.
3. Попцов В.Н., Захаревич В.М., Спирина Е.А., Хатуцкий В.М., Колоскова Н.Н., Тюняева И.Ю., Пчельников В.В., Устин С.Ю., Масютин С.А., Воронков В.Ю., **Догонашева А.А.**, Алиев Э.З. Опыт трансплантации сердца от доноров с фракцией изгнания левого желудочка менее 40% // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – Т. 20 (2). – С. 29–36.
4. Poptsov V.N., Spirina E.A., Uschrenkov S.G., Zacharevitch B.M., **Dogonasheva A.A.** Outcomes and risk factor of mechanical circulatory support by peripheral veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation at heart transplant candidates needing urgent heart transplantation // J Heart Lung Transplant. – 2018. – 37 (4S). – S285–S286.
5. Poptsov V.N., Koloskova N.N., Spirina E.A., Uschrenkov S.G., **Dogonasheva A.A.**, Zacharevitch B.M. A five-year experience in peripheral veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation as a method of mechanical circulatory support in heart transplant candidates // J Heart Lung Transplant. – 2018. – 37 (4S). – S286.
6. 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. – Т. 21 (1). – С. 7–16.

7. Poptsov V., Spirina E., **Dogonasheva A.**, Zolotova E. Five years' experience with a peripheral veno-arterial ECMO for mechanical bridge to heart transplantation // J Thorac Dis. – 2019. – 11 (Suppl 6). – S889–S901.

Список сокращений

АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
ВА ЭКМО	– вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация
ДКМП	– дилатационная кардиомиопатия
ДПП	– давление правого предсердия
ЗПТ	– заместительная почечная терапия
ЗСН	– застойная сердечная недостаточность
ИВЛ	– искусственная вентиляция легких
ИК	– искусственное кровообращение
ЛЖО	– левожелудочковый обход
МЖП	– межжелудочковая перегородка
МПК	– механическая поддержка кровообращения
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
ОПН	– острая почечная недостаточность
ОРИТ	– отделение реанимации и интенсивной терапии
ПИ	– протромбиновый индекс
ПОН	– полиорганная недостаточность
СДЛА	– систолическое давление легочной артерии
СИ	– сердечный индекс
СЛР	– сердечно-легочная реанимация
ТС	– трансплантация сердца
ФИЛЖ	– фракция изгнания левого желудочка
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность
EDHS (Eurotransplant Donor Heart Score)	– европейская шкала оценки потенциального донора сердца
SOFA (Sequential (Sepsis-related) Organ Failure)	– шкала органной недостаточности
UNOS (United Network for Organ Sharing)	– Объединенная сеть распределения органов

МЕТОДЫ ХИРУРГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА ЛЕГКИХ К ПЛЕВРАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ РЕЦИПИЕНТА

Олешкевич Д.О., 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

На сегодняшний день трансплантация донорских легких является радикальным и эффективным способом лечения больных с тяжелой дыхательной недостаточностью на терминальных стадиях легочных заболеваний различной этиологии [Chambers D.C., 2019; Raemdonck V., 2015].

Однако трансплантация легких сопряжена не только с всеобщей проблемой дефицита доноров [Loginov V.I., 2014], но и с низким процентом донорских органов, пригодных для трансплантации [Виноградов В.Л., 2013].

Донорские легкие – орган, имеющий непосредственный контакт с окружающей средой, чрезвычайно восприимчивый к воздействию внешних факторов и условиям кондиционирования, что проявляется снижением газообменной функции, развитием неспецифических изменений (нейрогенный отек), и, как следствие, отказом от изъятия донорского органа с целью трансплантации [Raemdonck V., 2015].

Совокупность обстоятельств приводит к уменьшению количества эффективных легких донора до 15–20%, в то время как трансплантаты почки и печени, не имеющие контакта с окружающей средой, в среднем используются в 69 и 90% соответственно [Luis H., 2010; Raghu G., 2018]. Малое количество эффективных доноров легких приводит к 20–40% летальности за 1–2 года пребывания в листе ожидания [Mattar A., 2019].

Одним из основных критериев подбора пары донора и реципиента является групповое и антропометрическое соответствие. В то же время, индивидуальные редкие варианты патологической анатомии грудной полости (смещение средостения, грыжи средостения, буллезно-кистозные трансформации и гипоплазии легких) затрудняют стандартные подходы к подбору оптимального донора и приводят к необходимости коррекции легочного трансплантата в зависимости от конкретных условий.

Помимо этого, существует проблема, связанная с несоответствием, в некоторых случаях, размеров легких донора и объема или конфигурации грудной клетки реципиента [Sommer W., 2019; Reed R., 2014].

Белково-энергетическая недостаточность на фоне синдрома мальабсорбции и персистирующего инфекционного процесса у пациентов с муковисцидозом приводит к отставанию в физическом развитии и низкому нутритивному статусу, что отражается в снижении реабилитационного потенциала, и является фактором риска неблагоприятных исходов у пациентов с ИМТ менее 17 кг/м². Та же проблема актуальна и для пациентов, перенесших в анамнезе хирургические операции на грудной клетке, деформирующие ее [Eberlein M., 2017], и для реципиентов детского возраста, страдающих врожденными заболеваниями, нуждающихся в трансплантации легких, рост которых не превышает 152–154 см [Aigner S., 2004; Miyoshi R., 2016].

Решение проблемы дефицита легких происходит за счет расширения критериев эффективности доноров легких [Kotecha S., 2017], активного использования донорских органов после остановки эффективного кровообращения, применения методов экстракорпорального кондиционирования, нормотермической перфузии легких [Ghimessy A., 2019], и проведения лобарной трансплантации от живого родственного донора [Date H., 2012]. Одним из самых распространенных способов расширения критериев эффективности доноров является хирургическая адаптация легочных трансплантатов с целью преодоления антропометрического несоответствия донора и реципиента [Reed R., 2014].

Оценка эффективности и результатов хирургической коррекции легочных трансплантатов в рамках систематизации подходов к подбору пары донор–реципиент является необходимым условием дальнейшего развития трансплантации легких.

Степень разработанности темы исследования

В современных российских трансплантологических программах отсутствуют единые протоколы и методические рекомендации, регламентирующие использование «несоразмерных» легочных трансплантатов и хирургические методы их адаптации для реципиента. Отсутствует информация, в полной мере отражающая возможности расширения критериев пригодности доноров за счет методов хирургической адаптации трансплантата к плевральной полости реципиента. В отечественной медицинской литературе отсутствуют полные данные, регламентирующие методику использования расширенных критериев донора за счет ликвидации дефектов паренхимы трансплантата, что определяет необходимость разработки и систематизации подходов к выбору хирургической тактики и коррекции алгоритмов сопоставления пары донор–реципиент.

Цель исследования

Разработка методик и систематизация подходов к хирургической адаптации донорских легких при несоответствии антропометрических параметров трансплантата и грудной клетки реципиента.

Задачи исследования

1. Изучить опыт выполненных трансплантаций легких с использованием редукции трансплантата в Научно-исследовательском центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова и провести сравнительный анализ послеоперационных результатов у реципиентов с редукцией объема трансплантата и без таковой.
2. Оценить влияние локальных дефектов трансплантата на развитие послеоперационных осложнений.
3. Оценить примененные методы хирургической адаптации легочных трансплантатов в зависимости от соотношения антропометрических параметров донора и реципиента.
4. Разработать единый алгоритм выполнения редукции объема трансплантата в зависимости от степени антропометрического несоответствия грудной клетки донора и реципиента.

Научная новизна

Впервые систематизированы показания к редукции трансплантата легких с несоответствием размеров грудной клетки донора и реципиента.

Разработана новая методика определения степени антропометрического несоответствия и прогнозируемый объем редукции легочного трансплантата на этапе оценки потенциального донора.

Впервые продемонстрирована сохранность функции легких у реципиентов с различной степенью редукции трансплантата.

Оптимизирована техника редукции легких на различных этапах трансплантации.

Практическая значимость исследования

Внедрение научной разработки в клиническую практику позволит:

- сократить развитие осложнений, связанных с несоответствием размеров грудной клетки донора и реципиента легких;
- расширить пул реципиентов легких, считавшихся ранее неоперабельными из-за малых размеров грудной клетки;
- увеличить процент используемых доноров за счет расширения критериев пригодности к трансплантации, и, как следствие, увеличить количество трансплантаций легких в целом;

- сократить сроки пребывания реципиентов в листе ожидания до момента появления подходящего по антропометрии донора;
- создать платформу для развития и расширения возможностей детской трансплантации легких в России.

Методология и методы диссертационного исследования

В работу включены 68 клинических наблюдений реципиентов после трансплантации легких. Из них 34 пациентам выполнена редукция трансплантата легких, включая 4 пациентов детского возраста. В работе сравнены результаты течения послеоперационного периода у реципиентов после редукции легочных трансплантатов с аналогичными данными реципиентов без редукции трансплантатов. В работу также включены 129 посмертных доноров легких, часть из которых соответствует наблюдаемым реципиентам, и часть непригодных для трансплантации доноров, для изучения причин отказа. Антропометрическое соответствие донора и реципиента определялось по показателям роста, веса и общего прогнозируемого объема легких. При помощи стандартных статистических методов исследования изучены клинические данные доноров и реципиентов, целесообразность использования доноров с антропометрическим несоответствием и типы выполненных трансплантаций легких.

Основные положения, выносимые на защиту

- Выполнение редукции трансплантата легких не оказывает значимого влияния на частоту развития послеоперационных осложнений у реципиентов после трансплантации легких.
- Определение степени антропометрического несоответствия целесообразно проводить на этапе подбора пары донор–реципиент для последующего определения интраоперационной тактики.
- Донорские легкие, имеющие устранимые дефекты паренхимы (буллы, ателектазы и др.), могут быть использованы в качестве трансплантатов.
- Методы хирургической адаптации позволяют использовать легкие от взрослого посмертного донора в качестве трансплантата для реципиентов детского возраста и реципиентов с малым объемом грудной клетки.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечена достаточным объемом клинических исследований (68 пациентов после трансплантации легких) с использованием клинических, лабораторных

и инструментальных методов обследования, анализа, современных методов статистической обработки данных.

Апробация работы состоялась 9 июля 2020 года на объединенной конференции научных, клинических отделений и лаборатории федерального государственного 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) и 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).

Связь работы с научными программами

Диссертационная работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок по теме: «Разработка путей повышения эффективности трансплантации легких как радикального метода лечения терминальных стадий хронических респираторных заболеваний у взрослых и детей» (2018–2020 гг.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в клиническую работу хирургического отделения № 3 федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдела торакальной хирургии НИИ хирургии и неотложной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; а также в образовательную программу 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).

Материалы и методы исследования

Характеристика посмертных доноров легких

За период с сентября 2014-го по декабрь 2019 г. количество эффективных доноров легких составило 68. Возраст посмертных доноров составил от 18 до 61 года, средний возраст $42 \pm 10,1$ лет. Распределение по полу: 41 мужчина и 27 женщин.

Причинами смерти доноров послужили (рис. 1).



Рис. 1. Процентное соотношение причин смерти доноров легких.
ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения;
ЧМТ – черепно-мозговая травма

Основной причиной смерти головного мозга у доноров послужило развитие острого нарушения мозгового кровообращения, как по ишемическому, так и по геморрагическому типу.

Первичная оценка посмертных доноров легких

Первый этап – получение данных донора от регионального координационного центра органного донорства.

Второй этап – первичная оценка донора выездной бригадой специалистов трансплантационного центра. Состав бригады: врач-анестезиолог-реаниматолог, врач функциональной диагностики, врач-хирург.

Третий этап – оценка на предмет соответствия параметрам «оптимального донора». В противном случае, с целью увеличения количества пригодных трансплантатов, доноры, имеющие несоответствие оптимальным параметрам были оценены в качестве «доноров с расширенными критериями», количество которых, допускалось не более 3. В табл. 1 представлена частота встречаемости расширенных критериев доноров.

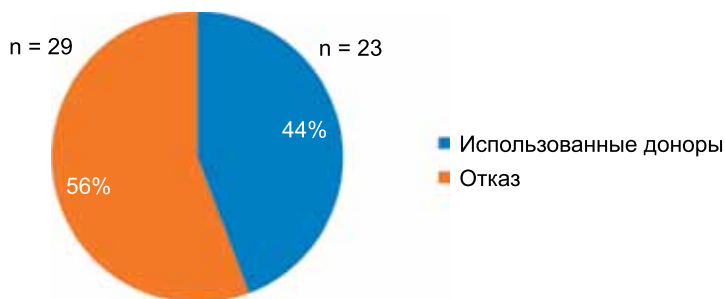
Для подсчета актуальных статистических данных соотношения качественной характеристики доноров была использована отдельная группа доноров, прошедших этап первичной оценки за период с 2018-го по 2019 год, численность которой составила 52 наблюдения. Из данной

Таблица 1

Частота распределения расширенных критериев доноров

Показатель	Количество
Незначительные диффузные или ограниченные локальные изменения по данным рентгенологических методов исследования органов грудной клетки	2
Продолжительность ИВЛ >48 часов	3
Несоответствие с реципиентом минимум по одному из антропометрических показателей (рост, вес, TLC) более чем на 25–30%	8
Наличие травм или операций на грудной клетке и/или нарушения целостности легких (пневмоторакс)	2
Индекс оксигенации $PaO_2/FiO_2 >250$ мм рт. ст., но <350 мм рт. ст.	3
Наличие анамнестических данных о заболевании сердца и легких, эпизоды остановки кровообращения или выявленные патологические изменения при проведении диагностических манипуляций в рамках мероприятий оценки	1
Незначительное количество гнойной мокроты при удовлетворительных показателях газообменной функции	1

группы обследованных потенциальных доноров для дальнейшей трансплантации легких были использованы 23 донора (44%). 29 (56%) доноров были признаны непригодными для трансплантации (рис. 2).

**Рис. 2. Процент использования доноров за 2018–2019 гг.**

Среди эффективных доноров оптимальным критериям соответствовали 11 (48%); количество доноров с расширенными критериями составило 12 наблюдений (52%) (рис. 3).

Интраоперационно проводилась окончательная оценка пригодности трансплантата. В случае отсутствия каких-либо некорректируемых дефектов трансплантат считался пригодным.

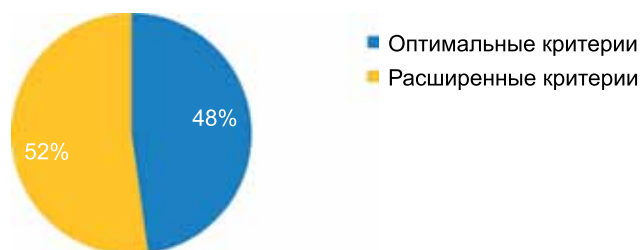


Рис. 3. Соотношение качественной характеристики доноров

Характеристика реципиентов легочных трансплантатов

В исследование включены 68 реципиентов, прооперированных в НМИЦ ТИО им ак. В.И. Шумакова за период с 2014-го по 2019 г.

Всем реципиентам были выполнены следующие виды трансплантаций (рис. 4).

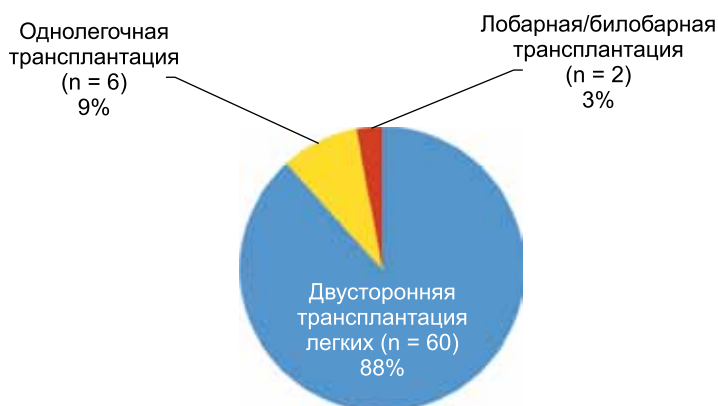


Рис. 4. Количественное распределение видов трансплантаций легких

Все реципиенты, включенные в исследование, для сравнения показателей и определения статистических корреляций были разделены на две группы:

- 1) *Исследуемая группа* – 34 наблюдения, которым были выполнены трансплантации легких с последующей редукцией объема (двусторонняя, однолегочная, билобарная). Гендерное распределение пациентов исследуемой группы: 14 пациентов мужского пола (41%), в возрасте от 10 до 57 лет (средний возраст $31,5 \pm 13,5$ лет) и 20 пациенток женского пола (59%), в возрасте от 9 до 59 лет (средний возраст $32,2 \pm 14$ лет). Из них 5 реципиентов детского возраста (3 –

женского пола, 2 – мужского пола), средний возраст $9,6 \pm 4,9$ лет (рис. 11).

- 2) *Контрольная группа* – 34 реципиента, которым была выполнена двусторонняя или односторонняя трансплантация легких без проведения редукции объема трансплантата. Гендерное распределение пациентов: 27 пациентов мужского пола (79%), в возрасте от 17 до 74 лет (средний возраст $37,2 \pm 15,3$ лет) и 7 пациенток женского пола (21%), в возрасте от 14 до 54 лет (средний возраст $37 \pm 15,1$ лет). Из них 3 реципиента детского возраста (2 – женского пола, 1 – мужского пола), средний возраст $15,7 \pm 1,5$ лет.

Количественное распределение нозологий реципиентов обеих групп представлено в табл. 2.

Таблица 2

Распределение нозологических форм реципиентов легких

Диагноз	Количество наблюдений реципиентов без редукции (n = 34)	Количество наблюдений реципиентов с редукцией (n = 34)
Муковисцидоз	10	13
Легочный фиброз в исходе интерстициальных заболеваний	1	5
Идиопатический легочный фиброз	2	3
ХОБЛ	11	3
Лимфангиолейомиоматоз	1	3
Легочная гипертензия	5	5
Эмфизема легких в исходе альфа-1-АТ недостаточности	2	0
Бронхоэктатическая болезнь	1	1
Первичная эмфизема легких	1	0
Аномалия развития (гипоплазия) легких	0	1
Всего	34	34

Примечание. ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; альфа-1-АТ – недостаточность альфа-1-антитрипсина.

В группе реципиентов с редукцией объема (n = 34) были выполнены следующие виды трансплантаций (рис. 5).

Низкий процент выполнения лобарных трансплантаций легких свидетельствует о необходимости развития данного направления в области детской трансплантации легких.



Рис. 5. Соотношение видов трансплантаций легких с редукцией объема. ТЛ – трансплантация легких

Техника и методы хирургической адаптации легочного трансплантата

Положение пациента – на спине с отведенными на 90° верхними конечностями, размещенными на подставках.

Хирургический доступ – двусторонняя передне-боковая торакотомия с поперечной стернотомией – ракушкообразный разрез (типа «clamshell») на уровне 4 межреберья. При однолегочной трансплантации пациент позиционируется на противоположном боку, с отведенной вверх рукой, размещенной на подставке.

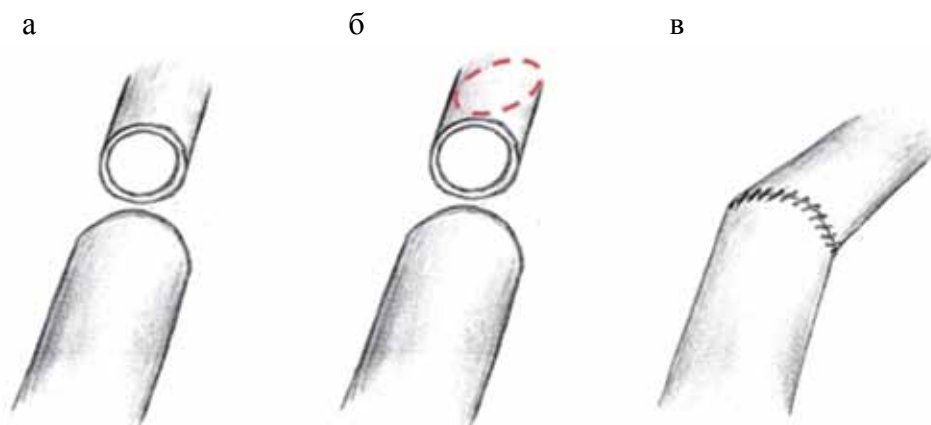
Формирование бронхиального анастомоза выполнялось по телескопическому типу, бронх меньшего диаметра погружался в бронх большего диаметра. Обязательным этапом являлась проверка герметичности анастомоза под уровнем жидкости.

В случае несоответствия диаметров сосудов на участке формирования анастомоза (чаще артериального) выполнялось предварительное отсечение сосуда меньшего диаметра с формированием косой плоскости анастомозирования (рис. 6) и последующее наложение сосудистого анастомоза конец в конец.

Соотношение антропометрических показателей донора и реципиента

Для определения антропометрического соответствия были использованы показатели роста, веса и прогнозируемой емкости легких донора и реципиента (TLC).

Другие параметры соответствия (диаметр бронхов и сосудов) были оценены интраоперационно, при обработке элементов корней легких донора на препаровочном столе и визуализации культей сосудов и бронхов реципиента после выполнения пульмонэктомии.



**Рис. 6. Анастомозирование сосудов разного диаметра:
а – два сосуда разного диаметра; б – отсечение конца меньшего сосуда с формированием косой плоскости анастомоза; в – наложение сосудистого анастомоза**

Редукция трансплантата легких

При выполнении двусторонней и односторонней трансплантации легких с последующей редукцией объема, оценка степени несоответствия размера трансплантата и объема плевральной полости реципиента проводилась после имплантации обоих трансплантатов.

При необходимости выполнялась редукция участков паренхимы легких при помощи хирургических сшивающе-режущих аппаратов.

Исключения составляли только трансплантаты, требующие выполнения редукции с целью удаления локальных дефектов паренхимы. В таких случаях редукция трансплантатов осуществлялась на этапе обработки на препаровочном столе.

При выполнении двусторонней лобарной трансплантации легких разделение легочного трансплантата выполнялась на препаровочном столе.

После соответствующей подготовки трансплантат помещается в ортотопическую позицию, в плевральную полость, и в стандартной последовательности выполнялось наложение бронхиального, венозного и артериального анастомозов. Данных операций в НМИЦ ТИО им ак. В.И. Шумакова выполнено 2.

Методы статистической обработки данных

Систематизация, сортировка и подсчет данных выполнялась в компьютерной программе электронных таблиц Microsoft Excel 2010 г.

Для оценки статистической значимости критериев и параметров исследуемых групп, а также построения графического отображения полу-

ченных данных использовалась компьютерная программа биомедицинской статистики Statistica 12 (StatSoft Inc. 2014).

Для статистической обработки исследуемых данных использовались стандартные методы медико-биологических исследований. Проверка нормальности распределения определялась критерием Шапиро–Уилка. Данные представлены для непараметрических переменных как медиана и интерквартильный размах. Статистическую обработку полученных данных проводили методами непараметрической статистики: для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна–Уитни. Для изучения связи качественных и количественных порядковых признаков определялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. статистически достоверными показатели считались при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Анализ течения послеоперационного периода у реципиентов легких после выполнения редукции объема трансплантата выполнен с целью определения безопасности применения данного метода хирургической адаптации и целесообразности его применения в клинической практике.

Сравнение клинических показателей реципиентов с редукцией трансплантата и без таковой в послеоперационном периоде

Показатель выживаемости в первые 3 месяца после трансплантации легких в группе с редукцией объема трансплантатов составил 74%, против 94% в группе без редукции ($p = 0,6$); в первый год после трансплантации легких в группе с редукцией составил 65%, против 82% в группе без редукции ($p = 0,8$).

Частота осложнений раннего и позднего послеоперационного периода в обеих группах реципиентов оценена с целью определения влияния редукции трансплантата на течение послеоперационного периода. Осложнения раннего послеоперационного периода, у реципиентов без редукции трансплантата, развились в 58%. В позднем послеоперационном периоде – в 28% случаев (табл. 3–4).

На основании проведенного исследования, при сравнении доли всех видов осложнений в обеих группах, не получено статистически значимой зависимости частоты развития ранних и поздних послеоперационных осложнений у реципиентов после выполнения редукций трансплантата легких ($p = 0,43$).

Оценка влияния редукции трансплантата, как предполагаемого фактора риска осложненного течения послеоперационного периода представлена в табл. 5.

Полученные данные анализа течения послеоперационного периода у реципиентов с редукцией трансплантата и их сравнительной характеристики с реципиентами без редукции, демонстрируют возможность эффективного применения данной методики при трансплантации легких.

Таблица 3

Сравнение количества осложнений раннего послеоперационного периода у реципиентов с редукцией и без таковой

	Осложнение	Количество наблюдений группы без редукции	Количество наблюдений группы с редукцией	Достоверность
1.	Респираторные инфекционные осложнения	6 (30%)	2 (8,3%)	p = 0,40
2.	Раневые осложнения	6 (30%)	4 (16,7%)	p = 0,97
3.	Острое отторжение трансплантата легких	1 (5%)	4 (16,7%)	p = 0,53
4.	Кровотечение в плевральную полость	6 (30%)	9 (37,5%)	p = 0,68
5.	Легочное кровотечение	1 (5%)	3 (12,5%)	p = 0,68
6.	Несостоятельность бронхиальных анастомозов	1 (5%)	2 (8,3%)	p = 0,83
7.	Сердечно-сосудистые нарушения	6 (30%)	5 (20,8%)	p = 0,83
8.	Острая почечная недостаточность	8 (40%)	11 (45,8%)	p = 0,40
9.	Парез диафрагмы	3 (15%)	2 (8,3%)	p = 0,82
10.	Нейротоксические побочные эффекты такролимуса	1 (5%)	1 (4,2%)	p = 0,83

Таблица 4

Сравнение количества осложнений позднего послеоперационного периода у реципиентов с редукцией и без таковой

	Осложнение	Количество наблюдений группы без редукции	Количество наблюдений группы с редукцией	Достоверность
1.	Инфекционные осложнения	4 (44%)	4 (40%)	p = 0,13
2.	Острое отторжение трансплантата легких	2 (22%)	2 (20%)	p = 0,17
3.	Почечная недостаточность	4 (44%)	0	p = 0,29
4.	Отдаленные бронхиальные осложнения	1 (11%)	5 (50%)	p = 0,56

Таблица 5

Влияние редукции трансплантата на течение послеоперационного периода

	Параметр	Досто- верность
1.	Продолжительность пребывания в отделении реанимации	$p = 0,83$
2.	Продолжительность пребывания в стационаре	$p = 0,21$
3.	Продолжительность операции	$p = 0,1$
4.	Продолжительность использования ЭКМО	$p = 0,81$
5.	Длительность искусственной вентиляции легких	$p = 0,67$
6.	Частота возникновения отторжения трансплантата легких	$p = 0,17$
7.	Частота развития гидроторакса	$p = 0,56$
8.	Частота развития пневмоторакса	$p = 1,0$
9.	Летальность в раннем послеоперационном периоде	$p = 0,61$
10.	Летальность в позднем послеоперационном периоде	$p = 0,42$

Влияние локальных дефектов трансплантата на развитие послеоперационных осложнений

Фактором для развития осложнений в раннем послеоперационном периоде в ряде случаев явились локальные дефекты паренхимы. При обнаружении дефектов и возможности их устранения, в зависимости от вида и локализации выполнялись следующие приемы:

Рекрутирование зон ателектазов при помощи вентиляции легких с использованием высокого давления (PS до 30 см вод. ст.) в организме донора;

Дополнительная перфузия консервирующим раствором для устранения очагов недостаточной отмывки трансплантата легких;

Ушивание или резекция дефектов легочной ткани, пластика булл на препаровочном столике, после изъятия трансплантата.

Результаты хирургической адаптации трансплантата легких

Важной задачей для хирургической адаптации трансплантата явилось сопоставление диаметров донорского и нативного бронха. Во всех наблюдениях ($n = 68$) применен телескопический тип бронхиального анастомоза. При выполнении билобарных трансплантаций детям ($n = 2$), были использованы легкие от взрослого посмертного донора. Из них в 1 наблюдении, в качестве трансплантатов, использовались нижние доли легких. В 1 наблюдении анастомоз был сформирован на уровне главных бронхов реципиента с промежуточным (справа) и нижнедолевым (слева) бронхами донора.

Таблица 6

Оценка влияния показателей донора и реципиента на частоту выполнения редукции

	Показатель	Достоверность
1.	Пол реципиента	p = 0,0035
2.	Нозологическая форма реципиента	p = 0,075
3.	Отношение веса донора и реципиента	p = 0,560154
4.	Отношение роста донора и реципиента	p = 0,000015
5.	Отношение TLC донора к реципиенту	p = 0,0019

Для определения факторов, определяющих частоту выполнения редукции трансплантата проведена оценка корреляции базовых показателей пациентов: (табл. 6).

Редукция трансплантата легких пациентам женского пола, согласно тесту Фишера, выполнялась на 20% чаще, чем реципиентам мужского пола, p = 0,0013.

Частота встречаемости нозологических форм у реципиентов с редукцией трансплантата легких и без таковой не была сопоставима, p = 0,075 (рис. 7).

Расчет общей емкости легких (TLC) включает в себя рост и гендерную принадлежность, благодаря чему данный показатель использован в качестве определяющего, для прогнозирования антропометрического несоответствия.

При помощи теста Краскела–Уоллиса, проведен анализ зависимости типа операции, классифицированного по объему редукции трансплантата, от отношения TLC донора и реципиента.

На рис. 8 рассмотрены 3 типа операций в соответствии с показателями отношения TLC донора и реципиента.

Полученные данные (табл. 7) обуславливают необходимость разработки классификации антропометрического несоответствия донора и реци-

Таблица 7

Результаты расчета пороговых значений отношения TLC донора и реципиента в соответствии с типом операции

Тип операции	Пороговое значение	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Медиана	Мин. отношение	Макс. отношение
1 тип	1,01	0,96	1,06	0,98	0,71	1,39
2 тип	1,15	1,08	1,22	1,11	0,83	1,68
3 тип	1,90	1,04	2,75	1,90	1,83	1,96

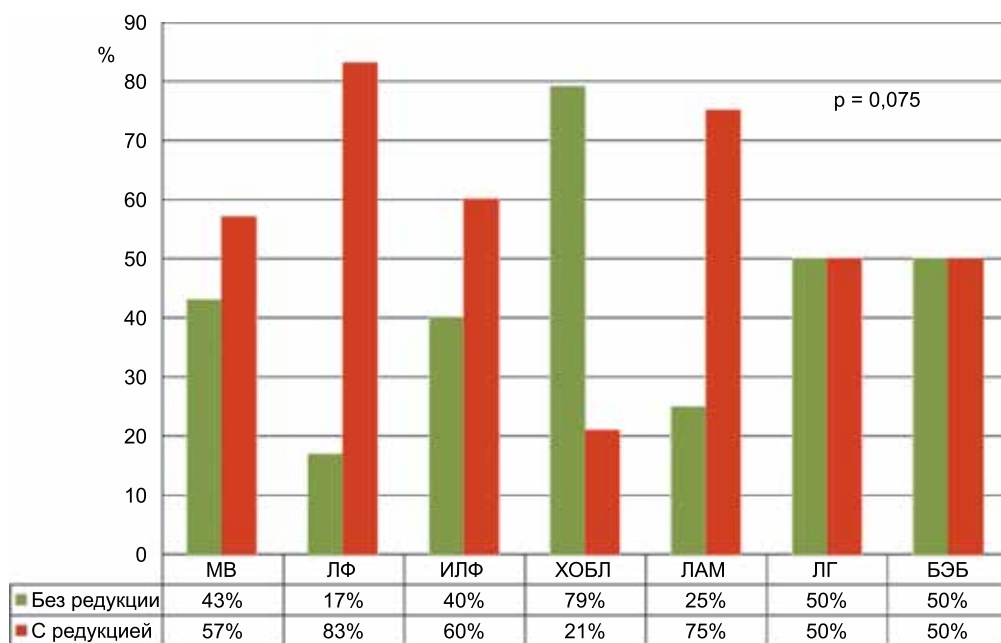


Рис. 7. Частота встречаемости нозологических форм у реципиентов с редукцией объема легких и без таковой. БЭБ – бронхоэктатическая болезнь; ЛАМ – лимфангиолейомиоматоз; ИЛФ – идиопатический легочный фиброз; ЛФ – легочный фиброз в исходе интерстициальных заболеваний; ЛГ – легочная гипертензия; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких; МВ – муковисцидоз

пиента, для чего был использован метод кластерного анализа отношения TLC донора и реципиента, в зависимости от типа операции (рис. 9).

Кластерный анализ позволил выявить 3 диапазона значений отношения TLC донора и реципиента, соответствующие типам операций, табл. 8.

Таблица 8

Показатели отношения TLC донора и реципиента в соответствии с типом операции

Тип операции	Отношение TLC донора и реципиента
1-й тип	<1,25
2-й тип	1,25–1,75
3-й тип	>1,75

На основании анализа результатов выполненных редукций трансплантата легких, предложена система прогнозирования степени антропомет-

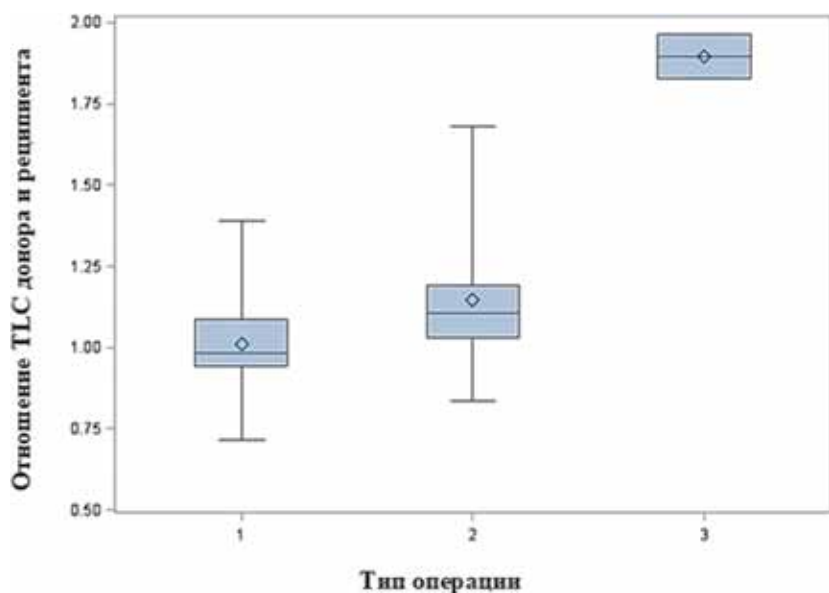


Рис. 8. Определение зависимости типа операции от отношения TLC донора и реципиента (Тест Краскела–Уоллиса):

1-й тип – трансплантация легких без выполнения редукции объема трансплантата; 2-й тип – трансплантация легких с атипичной редукцией объема трансплантата; 3-й тип – лобарная/билобарная трансплантация легких

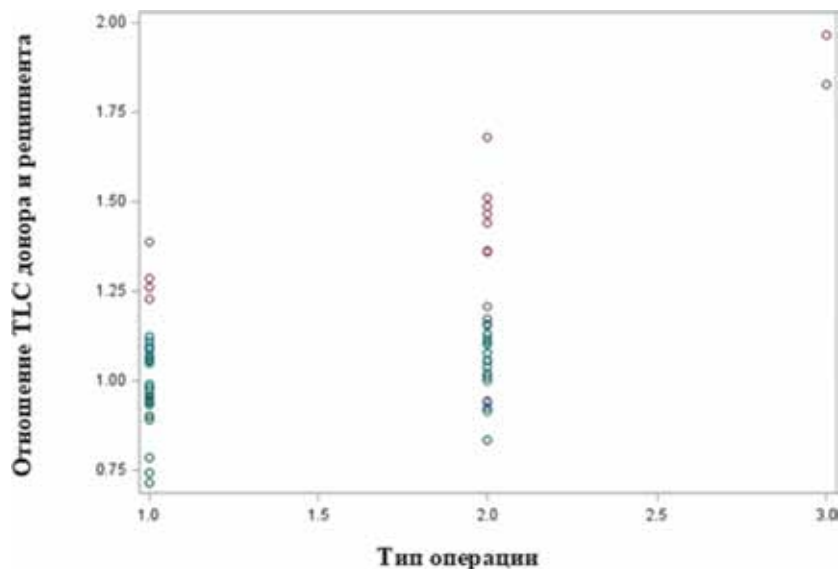


Рис. 9. Кластерный анализ отношения TLC донора и реципиента в зависимости от типа операции

рического несоответствия донора и реципиента для определения хирургической тактики, табл. 9.

Таблица 9

Предложенная классификация прогнозируемого антропометрического несоответствия донора и реципиента

Отношение TLC донора и реципиента	Степень прогнозируемого несоответствия (СПН)
<1,25	0 степень
1,25–1,75	1 степень
>1,75	2 степень

При 0–1 степени прогнозируемого несоответствия (СПН 0–1) последовательность этапов трансплантации легких предполагает имплантацию с последующей интраоперационной оценкой объемного соответствия и выполнением редукции трансплантата, при необходимости.

При 2 степени прогнозируемого несоответствия (СПН 2), последовательность этапов трансплантации легких предполагает оценку объема плевральной полости, с последующим принятием решения о виде трансплантации (двулегочная/однолегочная с последующей редукцией объема или лобарная/билобарная) и подготовкой трансплантата (редукция объема, сосудистая реконструкция и др.) на препаровочном столе, перед имплантацией.

Протокол интраоперационного определения объемного соответствия трансплантата легких и плевральной полости реципиента

1. *Мануальная оценка* – определяется равномерность прилегания поверхности трансплантата к стенкам плевральной полости, соответствие верхней и нижней доли трансплантата куполу плевральной полости и реберно-диафрагмальным синусам.
2. *Визуальная оценка* – производится пробное сведение краев торакотомной раны и грудины, визуально определяется наличие грыжевых выпячиваний паренхимы легких между краями торакотомной раны, участков ателектазирования и/или гиповентиляции, невозможности сведения краев раны.
3. *Инструментальная оценка* – в течение 3–5 минут, при сведенных краях торакотомной раны и грудины, оцениваются нарушения основных вентиляционных и гемодинамических показателей:
 - снижение сатурации крови – $SpO_2 < 90\%$ при $FiO_2 50\%$;
 - значимое снижение объемных показателей вентиляции – $V_t < 5$ мл/кг веса реципиента;

- гемодинамически значимое снижение артериального давления в течение периода инструментальной оценки;
 - гемодинамически значимое изменение и/или нарушение ритма сердца, возникшее на этапе инструментальной оценки;
4. Появление или нарушение хотя бы одного из перечисленных признаков является показанием к редукции объема трансплантата.
 5. После выполнения редукции трансплантата производится повторная поэтапная оценка антропометрического соответствия.

Протокол хирургической тактики для доноров с антропометрическим несоответствием и/или локальным дефектом трансплантата

Опыт выполненных операций, с применением методов хирургической адаптации трансплантата легких, подробный многофакторный анализ результатов наблюдений, является основанием для составления алгоритма хирургической тактики при адаптации трансплантата к плевральной полости реципиента (рис. 10).

Алгоритм подразумевает возможность выполнения редукции трансплантата с целью объемной коррекции, устранения дефектов трансплантата, а также сопоставления диаметров бронхов и сосудов корня легкого для последующего формирования анастомозов.

Выводы

1. Из 68 наблюдений, включенных в исследование, редукция трансплантата была выполнена в 50% случаев, из которых 85% – двусторонняя последовательная трансплантация легких, 9% – односторонняя трансплантация и 3% – лобарная трансплантация легких. Редукция трансплантата не оказывает влияния на частоту развития послеоперационных осложнений у реципиентов легких, позволяет увеличить количество используемых трансплантатов и может быть эффективно использована в клинической практике.
2. Локальные дефекты (буллы, ателектазы и др.) трансплантата легких сопряжены с высоким риском развития осложнений в раннем послеоперационном периоде. Дефекты должны быть превентивно устранены на этапе эксплантации донорских легких или обработки трансплантата на препаровочном столе.
3. Хирургическая адаптация трансплантата легких к грудной клетке реципиента включает в себя: редукцию паренхимы легких сшивающе-режущим аппаратом; сопоставление диаметров нативного и донорского бронхов за счет формирования анастомоза по телескопическому типу. При значительной разнице диаметров использу-



Рис. 10. Алгоритм хирургической тактики при адаптации трансплантата легких к плевральной полости реципиента.
СПН – степень прогнозируемого несоответствия

ются бронхи меньшего порядка. Сопоставление диаметра сосудов осуществляется при помощи пластики сосудистой стенки или с использованием интерпозиции лоскута перикарда.

4. Разработан единый алгоритм, регламентирующий прогнозирование антропометрического несоответствия донора и реципиента, с последующим определением тактики хирургической адаптации трансплантата легких к грудной клетке реципиента. При антропо-

метрическом несоответствии 1-й степени выполнение редукции трансплантата выполняется после имплантации донорских легких; при антропометрическом несоответствии 2-й степени редукция объема выполняется на этапе подготовки на препаровочном столе, перед имплантацией.

Практические рекомендации

1. Антропометрию донора и реципиента целесообразно проводить, используя показатели веса, роста и прогнозируемой общей емкости легких (TLC).
2. Определение степени антропометрического несоответствия и необходимости редукции объема трансплантата проводится на основании разницы TLC донора и реципиента.
3. Окончательное сопоставление трансплантата легких и грудной клетки реципиента необходимо определять согласно протоколу интраоперационной оценки объемного соответствия.
4. Хирургическую адаптацию трансплантата к грудной клетке реципиента, включающую: разделение двулегочного трансплантата на однолегочные или лобарные трансплантаты; редукции в объеме лобэктомии; сосудистую реконструкцию, целесообразно проводить на этапе обработки трансплантата на препаровочном столе.
5. Хирургическую адаптацию трансплантата к грудной клетке реципиента в объеме атипичной сегментарной резекции паренхимы легких целесообразно проводить после этапа имплантации, на основании данных интраоперационной оценки объемного соответствия.
6. Наличие локальных дефектов легочного трансплантата является прямым показанием для их устранения, вне зависимости от состояния дефекта на этапе трансплантации.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. С.В. Готье, В.Н. Попцов, О.М. Цирульников, С.А. Красовский, Е.А. Спирина, С.В. Головинский, Н.Б. Нечаев, **Д.О. Олешкевич** / Трансплантация легких ребенку от взрослого посмертного донора // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2017 – Т. 19 – № S. – С. 83.
2. С.В. Головинский, Н.Б. Нечаев, М.А. Русаков, А.С. Иноземцев, **Д.О. Олешкевич**, В.Н. Попцов / Лечение бронхиальных стенозов после двусторонней трансплантации легких // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2017 – Т. 19 – № S. – С. 84.
3. В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, И.В. Пашков, А.В. Беликова, **Д.О. Олешкевич**, Р.А. Латыпов, О.М. Цирульников, А.С. Епремян, Е.Ф. Шигаев, С.В. Готье / Трансплантация легких при первичной легочной гипертензии: особенности

- периоперационного периода // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2018 – Т. 20 – № 4. – С. 30–37.
4. И.В. Пашков, В.Н. Попцов, **Д.О. Олешкевич**, С.В. Готье / Осложнения раннего послеоперационного периода после трансплантации легких // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2019 – Т. 21 – № 2 – С. 125–137.
 5. С.В. Готье, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, **Д.О. Олешкевич**, Р.А. Латыпов, А.Г. Сухорукова, М.Т. Беков, Е.Ф. Шигаев / Обобщение опыта трансплантации легких ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2019 – Т. 21 – № S. – С. 60.
 6. О.П. Шевченко, С.О. Шарапченко, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий, Е.Ф. Шигаев, **Д.О. Олешкевич**, М.Т. Беков / Экспрессия микро-РНК у реципиентов легких: корреляции с клиническими и лабораторными данными // Вестник трансплантологии и искусственных органов – 2020 – Т. 22 – № 2. – С. 86–96.
 7. Трансплантация легких при муковисцидозе: первые результаты / С.В. Готье, И.В. Пашков, О.М. Цирульникова, В.Н. Попцов, **Д.О. Олешкевич**, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова, М.Т. Беков, С.А. Красовский // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № S. – С. 50–51.
 8. Интервенционная бронхоскопия в лечении бронхиальных стенозов у реципиентов донорских легких / М.Т. Беков, И.В. Пашков, **Д.О. Олешкевич**, Р.А. Латыпов, Е.Ф. Шигаев, А.Г. Сухорукова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № S. – С. 52.
 9. Коррекция синдрома исчезающего промежуточного бронха после трансплантации легких у пациента с муковисцидозом и хроническим инфицированием В. Сераσία complex / И.В. Пашков, М.Т. Беков, О.М. Цирульникова, **Д.О. Олешкевич**, Р.А. Латыпов., Е.Ф. Шигаев, Сухорукова А.Г. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № S. – С. 53–54.
 10. Связь экспрессии микроРНК с показателями функции внешнего дыхания у пациентов с хронической дыхательной недостаточностью и реципиентов легких / О.П. Шевченко, С.О. Шарапченко, Цирульникова О.М., И.В.Пашков, М.Т. Беков, **Д.О. Олешкевич**, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № S. – С. 55–56.

Список используемых сокращений

АД	– артериальное давление
БАЛ	– бронхоальвеолярный лаваж
БЭБ	– бронхоэктатическая болезнь
ИВЛ	– искусственная вентиляция легких
ИЛФ	– идиопатический легочный фиброз
ИМТ	– индекс массы тела
ЛАМ	– лимфангиолойомиоматоз
ЛГ	– легочная гипертензия
ЛФ	– легочный фиброз в исходе интерстициальных заболеваний
МВ	– муковисцидоз
ОНМК	– острое нарушение мозгового кровообращения
СПН	– степень прогнозируемого несоответствия
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ХОБЛ	– хроническая обструктивная болезнь легких
ЦВД	– центральное венозное давление
ЧМТ	– черепно-мозговая травма
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЭКГ	– электрокардиография
ЭКМО	– экстракорпоральная мембранная оксигенация (система бивентрикулярного обхода сердца, дополненная мембранной оксигенацией)
ЭхоКГ	– эхокардиография
P _{peak}	– пиковое давление в дыхательных путях
SpO ₂	– сатурация крови
TLC (total lung capacity)	– прогнозируемая общая емкость легких
V _t	– дыхательный объем

ЗАМЕЩЕНИЕ ДЕФЕКТА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АЛЛОГЕННЫЕ КЛЕТКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Орлова Н.В., Яблонский П.К., Муравьев А.Н.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Наиболее тяжелый контингент среди больных, страдающих заболеваниями мочеполовой системы, в том числе и туберкулезом, составляют пациенты с так называемым «малым мочевым пузырем» (Зубань О.Н., Комяков Б.К., 2011; Муравьев А.Н., Зубань О.Н., 2012). Практически всем этим больным требуется реконструктивно-восстановительная хирургическая помощь. В то же время, на сегодняшний день множество проблем, связанных с реконструктивной хирургией мочевого пузыря (МП), остаются нерешенными (Муравьев А.Н. и соавт., 2015). Во всем мире золотым стандартом в реконструкции мочевых путей при неэффективности консервативных методов лечения является замещение нефункционирующего МП фрагментами желудочно-кишечного тракта, что нередко приводит к осложнениям (Семенов С.А., Муравьев А.Н., 2014; Gupta N.P. et al., 2008). Очевидно, что найти подходящий аналог ткани МП с ее уникальными свойствами совсем не легко.

Тканевая инженерия является одной из ведущих тенденций в современной науке и подразумевает разработку методов восстановления или замещения поврежденных структур с применением скаффолдов и клеток. Однако, несмотря на огромный объем публикаций, реконструкция урологических структур освещена довольно скудно.

В настоящее время для лечения поврежденных тканей и органов человека все более широкое применение находят биорезорбируемые синтетические полимерные материалы, которые используют в качестве основы для культивирования клеток (Ho M.H. et al., 2006; Shao J. et al., 2012). Зарубежные ученые давно предпринимают успешные попытки созда-

ния тканевых аналогов стенки МП (Pariente J.L. et al., 2002), применение «биоинженерных тканей» для трансплантации опробовано в экспериментальных условиях. В опыте *in vivo* МП у 14 собак успешно замещен резервуаром, выращенным *in vitro* (Oberpenning F. et al., 1999). После удачного эксперимента на лабораторных животных сгенерированный *in vitro* резервуар успешно трансплантирован человеку (Yoo J.J. et al., 2011).

В своих работах исследователи использовали в качестве источника клеток аутологичные ткани МП, что исключено при отсутствии здорового уротелия и мышечной стенки, когда все ткани мочевого пузыря замещены рубцовыми. Наши исследования направлены на поиск возможности применения клеточных технологий для помощи именно пациентам, имеющим малый мочевой пузырь, в том числе и туберкулезной этиологии.

Известно, что некоторые клетки организма не обладают выраженной иммуногенностью и подходят для аллогенной трансплантации. Аллогенные тканеинженерные кожные лоскуты применяются в клинической практике (Fabre J.W., 1991); для создания эпидермальных пластов успешно используются аллогенные кератиноциты и фибробласты (Мельцова А.Ж. и соавт., 2007; Швед Ю.А. и соавт., 2010; Therpot A. et al., 2011). Из всего многообразия клеточных источников выделяется группа мезенхимальных стволовых клеток (МСК), которые обладают способностью воздействовать на иммунный ответ, снижая выраженность реакции на имплантат (Yan S. et al., 2013). *In vitro* доказана возможность дифференцировки МСК в клетки, обладающие свойствами гладкомышечных клеток, эндотелиальных и уротелиальных клеток. Поэтому они являются весьма заманчивым кандидатом для создания тканеинженерных аналогов стенки мочевого пузыря (DaSilva M.L. et al., 2006).

Однако полного понимания механизмов, отвечающих за защитные и регенеративные эффекты, пока не достигнуто. Результаты проведенных на сегодняшний день, безусловно, обнадеживают, однако они требуют более пристального изучения (Martínez-Montiel Mdel P. et al., 2014).

Степень разработанности темы исследования

В последние годы опубликованы результаты системной терапии МСК при различных заболеваниях (Onken J. et al., 2006; Liang J. et al., 2012; Du T., Zhu Y.J., 2014) и экспериментальные работы по реконструкции различных урологических структур, в том числе и МП (Coutu D.L. et al., 2014). Мировой опыт применения аллогенных МСК для реконструкции МП на сегодняшний день представлен единичными экспериментальными исследованиями (Yuan H. et al., 2013; Snow-Lisy D.C. et al., 2015; Yuditceva N.M. et al., 2016).

Цель исследования

Обосновать возможность применения тканеинженерной конструкции, состоящей из композитной матрицы и аллогенных стромальных клеток костного мозга кролика, для замещения дефекта стенки мочевого пузыря.

Задачи исследования

1. Исследовать физико-механические и резорбтивные свойства полимера поли-L,L-лактида и композитных матриц на его основе, используемых для формирования тканеинженерной конструкции.
2. Доказать возможность применения тканеинженерной конструкции, состоящей из композитной матрицы и аллогенных стромальных клеток костного мозга кролика для замещения дефекта мочевого пузыря.
3. Изучить динамику клинических и лабораторных показателей в ответ на замещение дефекта мочевого пузыря кролика разработанной тканеинженерной конструкцией.
4. Оценить *in situ* жизнеспособность введенных в область дефекта мочевого пузыря аллогенных стромальных клеток костного мозга в составе тканеинженерной конструкции через 2,5 месяца после операции.

Научная новизна

Впервые в мировой практике на экспериментальной модели парциальной резекции мочевого пузыря выполнена имплантация тканеинженерного лоскута мочевого пузыря, содержащего аллогенные стромальные клетки костного мозга кролика, и изучена жизнеспособность *in situ* введенных в область дефекта мочевого пузыря клеток.

Произведена сравнительная оценка возможности применения многокомпонентных тканеинженерных конструкций, содержащих клетки различного тканевого происхождения, для замещения стенки мочевого пузыря в эксперименте.

Доказана в экспериментальных условиях возможность использования аллогенных стромальных клеток костного мозга кролика для создания многокомпонентного аналога стенки мочевого пузыря, что может стать альтернативой принятой реконструкции мочевых путей кишечными фрагментами.

Теоретическая и практическая значимость

В результате поведенного экспериментального исследования разработан аллогенный тканеинженерный продукт, который может применяться

для хирургического восстановления дефектов мочевого пузыря. Созданы предпосылки для дальнейшей разработки многокомпонентного композита с использованием аллогенных клеток, что, возможно, поспособствует в будущем улучшить результаты лечения в тех случаях, когда отсутствует возможность получения аутологичного материала.

Методология и методы исследования

При подготовке и реализации диссертационной работы использованы лабораторные, инструментальные, научные аналитические и статистические методы исследования. По дизайну исследование является экспериментальным, проспективным, базируется на изучении результатов хирургического вмешательства у 33 лабораторных животных.

Исследование одобрено решением независимого этического комитета при федеральном государственном бюджетном учреждении «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России) (протокол № 25 от 28.10.2015 г., выписка 25.1).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Композитная матрица, состоящая из поли-L,L-лактида и фиброина шелка (1 : 1), покрытая с наружной стороны водонепроницаемой пленкой из поли-L,L-лактида обладает оптимальным сочетанием механической прочности и деформации при растяжении для замещения дефекта мочевого пузыря.
2. Заселение композитной матрицы стромальными клетками костного мозга существенно увеличивает скорость ее резорбции.
3. Замещение дефекта мочевого пузыря разработанной тканеинженерной конструкцией, состоящей из композитной матрицы и аллогенных стромальных клеток костного мозга кролика, не сопровождается признаками отторжения в отличие от аллогенного мочепузырного лоскута, а также композитной матрицы без клеточного наполнения и заселенной аллогенными фибробластами, гладкими миоцитами и уротелием.
4. Внедрение разработанных тканеинженерных конструкций в дефект мочевого пузыря не вызывает отрицательных клинических проявлений и изменений лабораторных показателей в ближайшем и отдаленном послеоперационном периоде.
5. Введенные в область дефекта мочевого пузыря аллогенные стромальные клетки костного мозга в составе тканеинженерной конструкции, сохраняют жизнеспособность *in situ*.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность проведенного исследования определяется достаточным числом наблюдений (33 лабораторных животных) и применением адекватных методов статистического анализа.

Апробация работы состоялась 4 февраля 2020 года на заседании Ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Результаты работы доложены и обсуждены: на международной научной конференции «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 2014), IV, V, VI и VII Конгрессах Национальной Ассоциации Фтизиатров (СПб., 2015, 2016, 2017, 2018) – **второе место на конкурсе молодых ученых (2015)**, European Society for Gene and Cell Therapy and Finnish Society of Gene Therapy Collaborative Congress (Helsinki, Finland, 2015), II, III и IV Национальных Конгрессах по регенеративной медицине (Москва, 2015, 2017 и 2019), Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием, посвященной Международному дню борьбы с туберкулезом «Современные инновационные технологии в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза взрослых и детей» – **лауреат премии за лучший устный доклад** (Москва, 2016), VI Всероссийской с международным участием конференции по управлению движениями «Motor Control – 2016» (Казань, 2016), VIII Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2016), на XXI Санкт-Петербургской ассамблее молодых ученых и специалистов – **победитель конкурса грантов Санкт-Петербурга для студентов, аспирантов, молодых ученых, молодых кандидатов наук** (Санкт-Петербург, 2016 г.), на 12-th International Congress of Cell Biology (Prague, Czech Republic, 2016), на VI и VII Всероссийских конференциях с международным участием «Актуальные вопросы доклинических и клинических исследований лекарственных средств, биомедицинских клеточных продуктов и клинических испытаний медицинских изделий» (Санкт-Петербург, 2018 и 2019) и 11th International Conference on Tissue Engineering and Regenerative Medicine (Rome, Italy 2018).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в учебную деятельность федерального государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации: основные положения диссертационной работы используются в программах циклов усовершенствования врачей-урологов, хирургов и фтизиатров, что позволяет

повысить компетенции слушателей и сформировать самые современные знания о разработанных тканеинженерных конструкциях и возможностях их применения при повреждениях мочевого пузыря в эксперименте.

Основные положения диссертационной работы Н.В. Орловой используются в лекционных курсах для аспирантов федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН) по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки» и программам дисциплин «Введение в биологию стволовых клеток» и «Клеточная биология, цитология, гистология».

Материал и методы исследования

Исследование экспериментальное, контролируемое, выполнено на базе вивария ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России. В исследование вошли 26 взрослых половозрелых кроликов-самцов породы «шиншилла» массой $3459,30 \pm 19,31$ г (2964–3892 г): 7 животных в рамках этапа изучения резорбтивных свойств скаффолдов, 18 животных – в рамках основного этапа и 1 – в качестве здорового контроля, и 7 половозрелых нелинейных белых крыс-самцов, массой $377,57 \pm 17,28$ г (329–469 г) в рамках этапа изучения резорбтивных свойств скаффолдов.

Эксперимент состоит из двух этапов. На этапе *in vitro* на базе ФГБУН Институт цитологии РАН (ИНЦ РАН) созданы композитные матрицы, которые заселены различными аллогенными клетками кролика, выделенными по стандартной методике из кожи, мочевого пузыря и красного костного мозга. На этапе *in vivo* изучены резорбтивные свойства полимера поли-L,L-лактида и композитных матриц на его основе с добавлением фиброина шелка и целлюлозы, затем приготовленные тканеинженерные конструкции имплантированы кроликам-самцам породы «шиншилла» в стенку МП после его парциальной резекции.

Для приготовления матрицы в качестве основы взят полимер на основе молочной кислоты – поли-L,L-лактид («Sigma», США), который является наиболее подходящим из доступных материалов, так как соответствует ряду признаков: отсутствие токсичности, способность к биodeградации, безвредность продуктов распада. Матрицы готовили двумя различными методами. Метод выщелачивания позволяет создать довольно большой по площади скаффолд, который использовался для имплантации кроликам. При создании небольших матриц для имплантации крысам использовали метод лиофильной сушки, который существенно увеличивает плотность конструкции.

Физико-механические свойства разных по структуре скаффолдов изучены на предмет соответствия поставленным задачам. Всего исследованы *in vitro* и *in vivo* 3 типа матриц, полученных методом лиофильной сушки: скаффолд только из поли-L,L-лактида (ПЛ), матрица, содержащая

поли-L,L-лактид и ацетат целлюлозы (ПЛ + Ц) в концентрациях $1/2$ и $1/4$, и 4 типа матриц, полученных методом выщелачивания: пористая конструкция, состоящая только из поли-L,L-лактида, имплантат из поли-L,L-лактида и ацетата целлюлозы в концентрации $1/2$, матрица, содержащая поли-L,L-лактид и фиброин шелка в соотношении 1 : 1 (ПЛ + Ф), и трехслойный скаффолд из поли-L,L-лактида с фиброином шелка в соотношении 1 : 1, укрепленный с наружной стороны мелкопористой поли-L,L-лактидной пленкой (ПЛ + Ф(Н)).

Клетки МП кролика – уротелий (У) и гладкомышечные клетки (ГМК) – выделены по стандартной методике после забора фрагмента стенки мочевого пузыря методом открытой биопсии. Фибробласты (ФБ) выделены по стандартной методике из кожи с внутренней поверхности ушной раковины кролика. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) выделены по стандартной методике после забора красного костного мозга из гребня подвздошной кости. Выполнено иммунофенотипирование клеток на третьем пассаже с помощью моноклональных антител Abcam (США) на проточном цитофлуориметре Epics XL (Beckman Coulter). Относительное количество позитивных клеток с иммунофенотипическими маркерами CD90 и CD105, характерными для МСК, составило 81 и 92% (соответственно), гемопозитический маркер CD45 отсутствовал. Кроме того, МСК мечены суперпарамагнитными наночастицами на основе магнетита (SPION), которые позволяют визуализировать клетки в МП методом магнитно-резонансной томографии (томограф Magnetom Trio A Tim 3.0 Тесла, Siemens, режим t2). Коллагеновый гель с выделенными культурами клеток в концентрации 10^6 /мл введен в скаффолды. Всего приготовлено 73 различных матрицы.

Для изучения резорбтивных свойств ПЛ + Ц скаффолдов, полученных способом лиофильной сушки, созданы 42 матрицы различного состава. Произведено разделение на 3 группы (по 14 шт. в каждой группе): 1 – матрицы без добавления целлюлозы, 2 – с добавлением целлюлозы в концентрации $1/2$ и 3 – в соотношении $1/4$. Матрицы имплантированы 7 лабораторным крысам подкожно в боковые отделы спины (6 матриц каждому животному: 3 скаффолда каждого типа – без клеток и 3 – заселенные мезенхимальными стволовыми клетками).

Также 3 кроликам под кожу в боковые отделы спины имплантированы ПЛ + Ф матрицы, полученные методом выщелачивания (3 – без клеток и 3 – заселенные МСК), с целью определения скорости биodeградации скаффолда. Матрицы извлечены через 1, 2 и 3 недели.

На том же этапе 4 кроликам выполнено замещение дефекта стенки МП тканеинженерной конструкцией, состоящей из композитной ПЛ + Ц матрицы, полученной методом выщелачивания, с содержанием целлюлозы $1/2$ и аллогенных МСК. Период наблюдения составил 3 месяца.

После изучения физико-механических и резорбтивных свойств и выбора оптимального скаффолда приготовленные композитные матрицы, заселенные клетками имплантированы *in vivo* 12 кроликам на модель парциальной резекции МП. Также в качестве отрицательного контроля 3 животным трансплантирован аллогенный лоскут мочепузырной стенки (АЛ) и 3 животным – композитная матрица без клеток. Одно животное оставлено интактным. Операция завершалась оставлением цистостомического дренажа (подключичный катетер) выведенного под кожей на спину. Длительность катетеризации составила 14 суток.

Анестезиологическое пособие: комбинированный препарат для анестезии тилетамина гидрохлорид/золазепам гидрохлорид (Zoletil, Virbac SA, France) в дозе 25 мг/кг массы тела внутримышечно; миорелаксант ксилазина гидрохлорид (рометар, Bioveta, Чехия) в виде 2% раствора в объеме 1,0–1,5 мл внутримышечно.

Протокол операции. Под общей анестезией МП кролика выведен в рану через срединный лапаротомический разрез длиной 4 см. Выполнена электромиография (ЭМГ) при помощи введения 2 пар одноразовых подкожных нержавеющих игольчатых электродов (12 мм × 0,40 мм, Viasys, Santa Monica, CA, USA), определена емкость МП путем наполнения МП физиологическим раствором до начала мочеиспускания. По передней стенке МП частично отсепарирована паравезикальная клетчатка, резецирован фрагмент стенки пузыря 2,0 × 2,0 см. В место дефекта к стенке МП фиксирована приготовленная тканеинженерная конструкция (или аллогенный лоскут) узловыми швами викрил 4-0, снаружи анастомоз укреплен отсепарированной околопузырной клетчаткой. Операционная рана ушита послойно с оставлением цистостомического дренажа, выведенного под кожей на спину.

Антибактериальная терапия: все животные получали интраоперационно цефазолин, в/м в дозировке 10 мг/кг в 2 мл физиологического раствора.

В зависимости от типа имплантированной тканеинженерной конструкции, сформированы 5 групп: 1-я – животные, получившие скаффолд, заселенный ГМК и У; 2-я – животные, получившие скаффолд с фибробластами; 3-я – скаффолд, заселенный МСК; животным 4-й группы в качестве контроля имплантирована матрица без клеток; и 5 – животные, которым в качестве контроля имплантирован аллогенный лоскут мочепузырной стенки. Группы 1, 2, 4 и 5 состояли из 3 животных, а в группу 3 вошло 6 кроликов.

Период наблюдения составил $55,47 \pm 0,51$ суток (28–86 суток), в течение которых еженедельно измерялась масса тела животного, исследовались клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи. В конце периода наблюдения повторно выполняли ЭМГ с определением емкости МП.

Критерии включения – прохождение карантинного периода в 2 недели, отсутствие внешних признаков патологии, изменений в обще-поведенческих реакциях, а также отклонений от нормы в лабораторных анализах крови и мочи. Допустимым отклонением считалось присутствие солей (фосфатов) в общем анализе мочи, связанное с особенностями пищевого рациона.

Критерий исключения – летальный исход в течение месяца после оперативного вмешательства.

Методы оценки эффективности

1. Динамика массы тела (еженедельный мониторинг).
2. Выживаемость животных и оценка лабораторных показателей.
3. Оценка электромиографической активности в зоне имплантации.
4. Прижизненное определение меченых клеток в зоне имплантации методом магнитно-резонансной томографии.
5. Макроскопическая оценка паренхиматозных органов и лимфатических узлов.
6. Сканирующая электронная микроскопия.
7. Гистологическое исследование.
8. Конфокальная микроскопия криосрезов мочевого пузыря.

Морфологическое исследование гистологических препаратов и препаратов, окрашенных гистохимическим методом, проводилось при помощи светооптического микроскопа Leica DMLS при увеличении $\times 50$ – $\times 200$. Микрофотографии выполнены при помощи цифровой фотокамеры Leica DC320.

Для выполнения сканирующей электронной микроскопии образцы фиксировались в 1,25% растворе глутаральдегида (Polyscience) в 0,05 М какодилатном буферном растворе, содержащем 8,5% сахарозы, при значениях pH 7,4 и температуре 4 °C на ночь. Затем выдерживались 1 час при комнатной температуре в 1% растворе OsO₄ в том же буфере. После фиксации и обработки этанолом образцы помещались в заливочную среду низкой вязкости «Spurr» (Ted Pella). Затем с помощью микротомы Reichert Jung ultracut E приготовлены ультратонкие срезы, которые помещали на никелевые решетки и обрабатывали уранилацететом и нитратом свинца для контрастирования. Полученные препараты исследовали на электронном микроскопе Libra 120, 80 kV.

Для приготовления криосрезов заключенную в раствор «Tissue tec» (криогель) ткань замораживали путем многократного погружения в жидкий азот. Криосрезы толщиной 15–20 мкм (криотом Bright Instrument Company Limited) помещали на предметные стекла «super frost» и фиксировали 10%-ным раствором формалина. Для окрашивания ядер клеток после фиксации срезы выдерживали в течение 5 мин в 1%-ном растворе

красителя DAPI (4,6–диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорид). Затем препараты трижды отмывали сбалансированным физиологическим солевым раствором PBS (137 mM NaCl, 7 mM Na₂HPO₄, pH 7,4, 1,5 M KH₂PO₄, 2,7 mM KCl) с использованием реактивов квалификации особо чистых реактивов («Реахим», Россия; «Sigma», «Helicon», США). В качестве заключающей среды использовали Mounting medium (Pharmacia Biotech., Швеция). Анализ полученных препаратов проводили с помощью Bright конфокального микроскопа Leica TCS SL (Zeiss, Германия), для возбуждения флуоресценции использовали HeNe-лазер с длиной волны 504 нм.

Животных выводили из эксперимента путем введения в латеральную вену уха комбинированного препарата для анестезии тилетамина гидрохлорид/золазепам гидрохлорида (Zoletil, Virbac SA, Франция) в дозе в 5 раз превышающей терапевтическую.

Математическую обработку полученных клинико-морфологических данных проводили методами вариационной статистики при помощи программы Microsoft Excel с определением показателей среднего значения (M), ошибки среднего (m), достоверности различий между группами сравнения с вычислением критерия Стьюдента (t) и уровня значимости (α), доверительного интервала (p), различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Физико-механические и резорбтивные свойства полимера поли-L,L-лактида и композитных матриц на его основе, используемых для формирования тканеинженерной конструкции

После анализа литературы и изучения физико-механических характеристик различных доступных материалов принято решение взять за основу матрицы поли-L,L-лактид. В подобных матрицах отсутствуют специфические сайты связывания с клеточными рецепторами, поэтому клетки в пористый материал вводили в геле на основе коллагена 1 типа. Однако заполненная гелем матрица на практике оказалась недостаточно механически прочной для надежной фиксации к стенке МП. Для укрепления в часть скаффолдов введен фиброин шелка.

Также, помимо фиброина шелка в часть матриц введена целлюлоза (ПЛ + Ц скаффолд) в концентрациях $1/2$ и $1/4$. Такие матрицы показали хорошую механическую прочность и эластичность.

По результатам проведенных опытов наиболее подходящей оказалась ПЛ + Ф композитная матрица, полученная методом выщелачивания. Однако такая матрица оставалась проницаема для жидкости из-за своей пористой структуры, что является существенным недостатком при создании мочевого резервуара. Поэтому с наружной стороны конструкцию

покрыли водонепроницаемой пленкой из поли-L,L-лактида, что, к тому же, добавило дополнительной механической прочности. Прочностные характеристики 3 типов матриц (ПЛ, ПЛ + Ф, и ПЛ + Ф(Н)) приведены в табл. 1.

Таблица 1

Механические свойства матриц из поли-L,L-лактида

	Длина, mm	Толщина, um	Ширина, mm	Модуль (автоматический Юнга), МПа	Прочность (стандарт), МПа	Деформация при растяжении (стандарт), %
ПЛ	10,00000	1320,00000	2,50000	0,73093	0,00076	11,12640
ПЛ + Ф	10,00000	1200,00000	2,50000	0,77626	0,01339	17,67459
ПЛ + Ф(Н)	10,00000	1210,00000	2,50000	0,55649	0,00780	19,14004
Среднее	10,00000	1243,33333	2,50000	0,68789	0,00732	15,98034
Коэффициент вариации	0,00000	5,35522	0,00000	16,86776	86,49572	26,70168
Стандартное отклонение	0,00000	66,58328	0,00000	0,11603	0,00633	4,26702

Из табл. 1 видно, что укрепление матрицы из поли-L,L-лактида фиброином шелка (1 : 1) увеличивает ее прочность более, чем в 17 раз. Таким образом, наиболее механически прочным оказался ПЛ + Ф образец матрицы, что обусловлено относительно высоким содержанием фиброина шелка. Но результат его деформации при растяжении уступает таковому у ПЛ + Ф(Н) скаффолда (17,7 и 19,1% соответственно). К тому же, последний образец является непроницаемым для воды, что существенно в данном опыте.

Сравнительная характеристика всех приготовленных матриц представлена в табл. 2.

Табл. 2 так же, как и табл. 1, наглядно демонстрирует, что наиболее подходящим для эксперимента является композитная матрица из поли-L,L-лактида, укрепленная фиброином шелка и покрытая с внешней стороны мелкопористой водонепроницаемой полилактидной пленкой.

Для изучения резорбтивных свойств ПЛ + Ц скаффолдов 7 крысам под кожу боковых отделов спины имплантированы матрицы 3 типов: матрицы без добавления целлюлозы, с добавлением целлюлозы в концентрациях $\frac{1}{2}$ и $\frac{1}{4}$ (6 матриц каждому животному: 3 скаффолда каждого типа – без клеток и 3 – заселенные МСК). Несмотря на удовлетворительные

Таблица 2

Сравнительная характеристика созданных матриц

Тип матрицы	Возможность культивирования клеток*	Прочность**	Эластичность*	Водонепроницаемость*
ПЛ (n = 14)	+	+/-	-	-
ПЛ + Ц (n = 32)	+	++	+	-
ПЛ + Ф (n = 6)	+	+	+	-
ПЛ + Ф(Н) (n = 17)	+	++	+	+

Примечание. * «+» – наличие признака, «-» – отсутствие признака; ** «+/-» – структура матрицы не позволяет наложить шов, «+» – возможность наложить шов, «++» – матрица достаточно прочная даже для грубых швов.

прочностные характеристики при исследовании биodeградации *in vivo* в течение 3 месяцев после имплантации такой композит практически не резорбировался: длительный срок резорбции обусловлен повышенной плотностью матриц, полученных методом лиофильной сушки. В дальнейшем для приготовления матриц использовался только метод выщелачивания.

После 3 месяцев наблюдения зафиксировано отторжение имплантата у всех кроликов (n = 4), перенесших замещение дефекта МП ПЛ + Ц скаффолдом, содержащим аллогенные МСК. В связи с этим принято решение отказаться от использования целлюлозы в составе трансплантата.

Для изучения резорбтивных свойств ПЛ + Ф скаффолдов 3 кроликам под кожу боковых отделов спины имплантированы матрицы (3 – без клеток и 3 – заселенные МСК). Через 1 и 2 недели размеры, форма и консистенция имплантированных бесклеточных матриц и скаффолдов с МСК оказались сопоставимы с исходными. Через 3 недели отмечается уменьшение размеров и толщины ПЛ + Ф скаффолда, содержащего МСК почти в 2 раза от первоначальных значений ($0,9 \times 1,2$ см, при исходном диаметре 2,0 см). В случае имплантации не заселенного клетками ПЛ + Ф скаффолда, через 3 недели отмечается его инкапсуляция без значимых изменений размеров ($1,6 \times 1,9$ см при исходном диаметре 2,0 см).

Возможность применения тканеинженерной конструкции, состоящей из композитной матрицы и аллогенных стромальных клеток костного мозга кролика для замещения дефекта мочевого пузыря

По истечении периода наблюдения после замещения дефекта мочевого пузыря у 18 кроликов различными тканеинженерными конструкциями, состоящими из композитной матрицы и аллогенных клеток, оказалось,

что во всех случаях замещения дефекта, кроме трансплантации МСК-содержащих лоскутов, присутствует разной степени выраженности снижение емкости мочевого пузыря, наибольшее – при трансплантации ФБ-содержащего скаффолда (8% от исходной).

Количественное сравнение исходных емкостей МП кроликов и емкостей МП животных в момент выведения из эксперимента представлено на рис. 1.

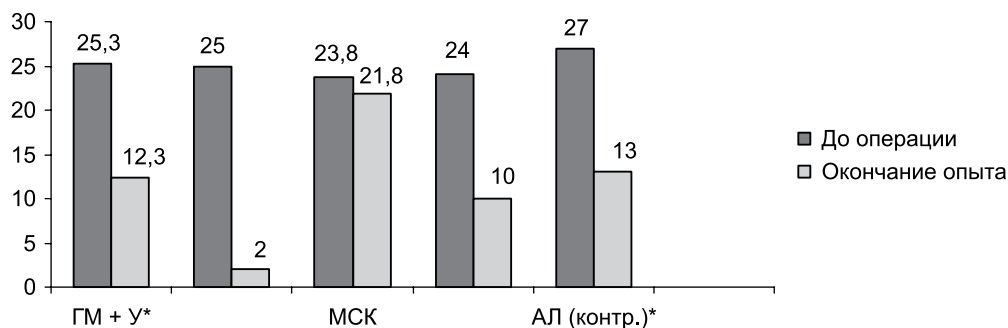


Рис. 1. Емкость мочевого пузыря кроликов до вмешательства и на момент выведения из эксперимента (мл).

* – разница параметров в начале и конце опыта достоверна, $p < 0,05$

Диаграмма показывает, что в группах 1, 2, 4 и 5 присутствует различной степени выраженности снижение емкости мочевого пузыря (8–48,7% от дооперационной, $p < 0,05$). У животных из группы 3 емкость мочевого пузыря практически не изменилась (91,6% от дооперационной).

При визуальном осмотре МП наиболее выраженная воспалительная реакция вне зоны имплантации наблюдается у всех животных из группы 2 (ФБ), и в одном случае в группе контроля (БМ). У этих же животных отмечен выраженный воспалительный перипроцесс (множественные грубые спайки с петлями кишечника, семенниками, брюшиной). В остальных группах присутствуют лишь единичные спайки с петлями кишечника и брюшиной. Полное отсутствие патологических изменений вокруг мочевого пузыря только у половины животных из 3 группы. Сравнительные данные визуальной оценки места имплантации представлены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что при осмотре места имплантации в 100% случаев в группах 1, 2, 4 и 5 и лишь в 1 (16,7%) случае в группе 3 определяется втянутый рубец с отеком слизистой оболочки различной степени выраженности. У остальных 5 (83,3%) животных из 3 группы в месте имплантации определяется вновь сформировавшийся участок слизистой с признаками васкуляризации (рис. 2).

Таблица 3

Сравнительная характеристика места имплантации

Группа	Отек	Папиллярные разрастания	Втянутый рубец	Наличие вновь сформированного участка слизистой
1 (n = 3)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	0
2 (n = 3)	3 (100%)	1 (33,3%)	3 (100%)	0
3 (n = 6)	1 (16,7%)	1 (16,7%)	1 (16,7%)	5 (83,3%)
4 (n = 3)	3 (100%)	1 (33,3%)	3 (100%)	0
5 (n = 3)	2 (66,7%)	2 (66,7%)	3 (100%)	0

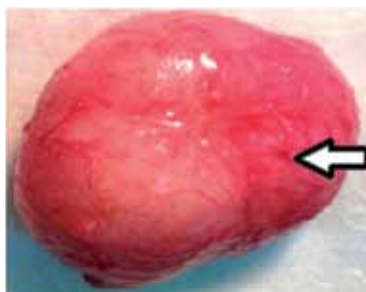


Рис. 2. Внешний вид места трансплантации при некропсии. Группа 3 (МСК). Вновь сформированный участок слизистой указан стрелкой

Также из 6 случаев имплантации МСК-содержащего скаффолда, в 5 (83%) произошел полный лизис матрицы, и лишь в 1 – вытеснение ее в просвет МП с формированием конкремента. И, наоборот, в 100% случаев использования прочих скаффолдов (ГМК + У, ФБ, бесклеточная матрица) произошло вытеснение матрицы или в жировую клетчатку (с инкапсуляцией и некрозом), или в просвет МП с формированием конкремента.

Мочевые пузыри с визуально различимым вновь сформированным участком стенки МП в месте имплантации исследованы гистологически. Подтверждено формирование всех слоев стенки МП к концу второго месяца наблюдения: слизистой, подслизистой, мышечной и адвентициальной оболочек (табл. 4).

Из табл. 4 следует, что при замещении дефекта стенки МП кролика тканеинженерной конструкцией с МСК наблюдается восстановление структуры стенки мочевого пузыря: слизистой, подслизистой, мышечной и адвентициальной оболочек. Причем, если после 1,5 месяцев наблюдения толщина оболочек значительно превышает таковую у интактного кролика за счет отека и воспаления (рис. 3), то по прошествии 2,5 меся-

Таблица 4

**Морфометрическая характеристика места имплантации у кроликов
3-й группы в сравнении с контролем**

Показатель ($M \pm m$)	Группа		
	Контроль	Группа 3 (МСК)	
		1,5 месяца	2,5 месяца
Толщина эпителия, мкм	$91,7 \pm 5,9$	$90,8 \pm 6,0$	$88,3 \pm 5,3$
Толщина собственного слоя слизистой оболочки, мкм	$22,5 \pm 1,1$	$31,7 \pm 3,1^*$	$62,5 \pm 5,1^*$
Толщина подслизистой оболочки, мкм	$325,0 \pm 44,4$	$1108,3 \pm 61,8^*$	$416,7 \pm 11,8^*$
Количество сосудов в подслизистой оболочке/1 мм ²	$3,0 \pm 0,0$	$8,0 \pm 0,4^*$	$4,0 \pm 0,0$
Диаметр сосудов подслизистой оболочки, мкм	$52,5 \pm 9,8$	$95,8 \pm 14,1^*$	$85,0 \pm 3,5^*$
Толщина мышечной оболочки, мкм	$1700,0 \pm 108,4$	$3416,7 \pm 156,5^*$	$1583,3 \pm 31,3$
Толщина адвентициальной оболочки, мкм	$27,5 \pm 5,0$	$283,3 \pm 42,7^*$	$83,8 \pm 8,1^*$

Примечание. * – разница достоверна по сравнению с показателями интактного кролика, $p < 0,05$.

цев толщина оболочек приближается к нормальным значениям. На рис. 3 представлена гистологическая картина места имплантации кроликов 3 группы.

Таким образом, можно заключить, что замещение дефекта мочевого пузыря возможно с помощью тканеинженерной конструкции, состоящей из композитной матрицы и аллогенных мезенхимальных стволовых клеток. Матрицы без клеточного наполнения и скаффолды, заселенные аллогенными фибробластами, гладкими миоцитами и уротелием, отторгались в 100% случаев.

Динамика клинических и лабораторных показателей в ответ на замещение дефекта мочевого пузыря кролика разработанной тканеинженерной конструкцией

Все животные перенесли операцию хорошо. Раны зажили первичным натяжением. Практически у всех животных период наблюдения протекал без особенностей, кроме одного случая развития гнойной пневмонии и одного случая травмы нижней конечности. Прирост массы тела кроликов был адекватный у всех животных, кроме одного с пневмонией.

При изучении показателей клинического анализа крови животных перед эвтаназией, отмечен умеренный лейкоцитоз в группе 1 ($15,63 \pm 0,33 \times$

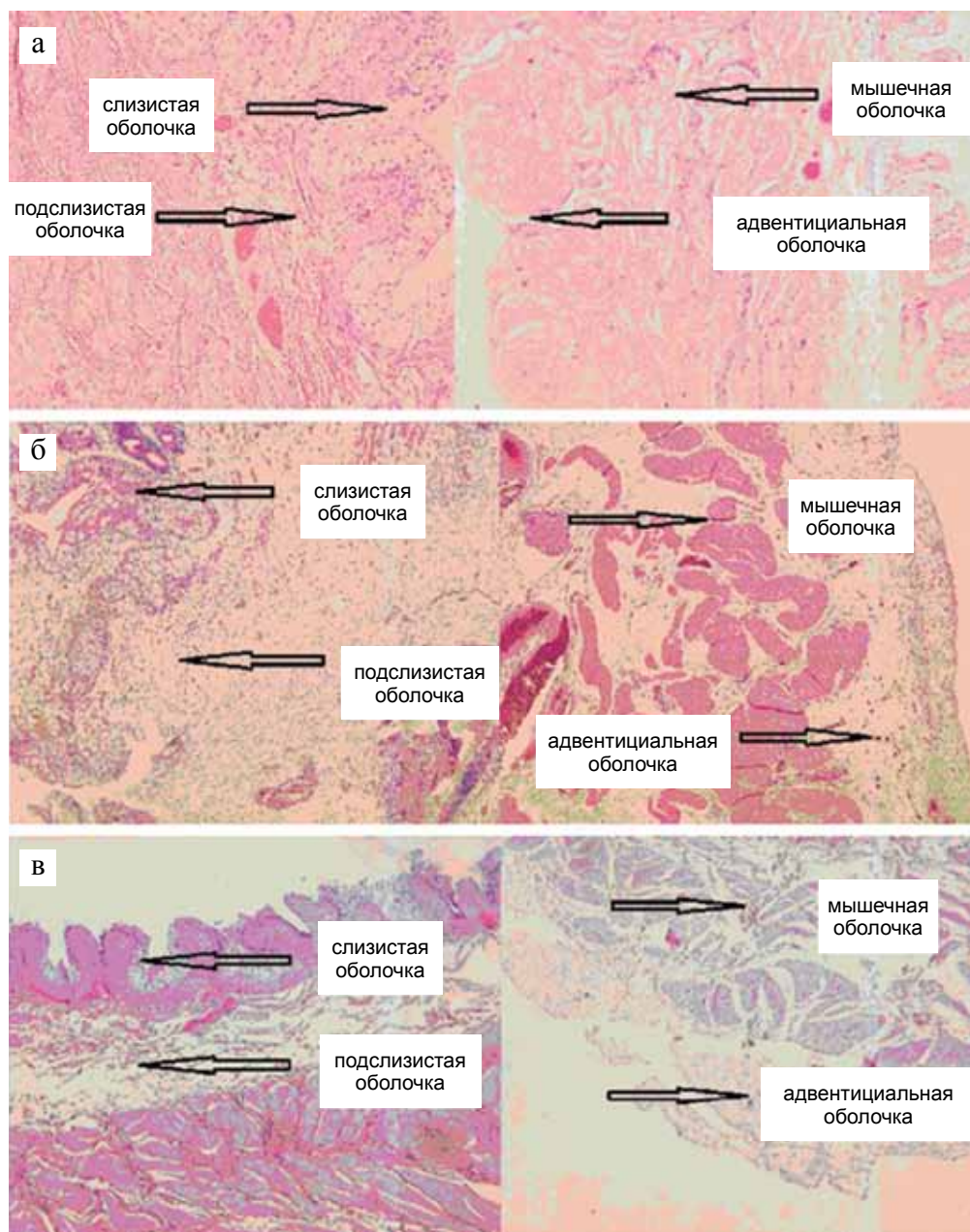


Рис. 3. Гистологическая картина места трансплантации у кроликов 3-й группы в сравнении с интактным:
а – интактный кролик (контроль);
б – через 1,5 месяца после трансплантации;
в – через 2,5 месяца после трансплантации.
Окраска: гематоксин-эозин. ×100

$10^3/\text{мкл}$) и группе 2 ($18,27 \pm 4,20 \times 10^3/\text{мкл}$). Также в группе 2 отмечено увеличение СОЭ ($6,00 \pm 0,75 \text{ мм/ч}$). Других, клинически значимых отклонений во всех группах не зафиксировано. Показатели биохимического анализа крови мало различались между группами и были в пределах референтных значений, кроме повышения среднего значения уровня С-реактивного белка в группе 2 ($15,1 \pm 9,05 \text{ мг/л}$) и 4 ($16,03 \pm 0,00 \text{ мг/л}$). В табл. 5 представлен сравнительный анализ воспалительных изменений, зафиксированных в анализах крови.

Таблица 5

Сравнительный анализ изменений показателей крови до операции и в конце периода наблюдения

Группа	Лейкоциты ($\times 10^3/\text{мкл}$)		СОЭ (мм/ч)		С-реактивный белок (мг/л)	
	до	после	до	после	до	после
1	$4,80 \pm 0,45$	$15,63 \pm 0,33^*$	$1,67 \pm 0,54$	$2,00 \pm 0,00$	0,00	$1,60 \pm 1,07$
2	$8,80 \pm 0,42$	$18,27 \pm 4,20^*$	$2,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,75^*$	$3,73 \pm 0,00$	$15,1 \pm 9,05^*$
3	$10,70 \pm 0,35$	$10,97 \pm 1,24$	$2,83 \pm 0,39$	$2,00 \pm 0,00$	$4,43 \pm 0,89$	$4,17 \pm 2,58$
4	$4,00 \pm 0,29$	$8,63 \pm 0,99$	$2,00 \pm 0,00$	$2,67 \pm 0,72$	$1,67 \pm 1,11$	$16,03 \pm 0,00$
5	$10,20 \pm 0,94$	$9,03 \pm 0,88$	$2,00 \pm 0,00$	$2,33 \pm 0,27$	$1,53 \pm 1,02$	$1,43 \pm 0,62$

Примечание. * – разница достоверна по сравнению с показателями в группах 3, 4, 5, $p < 0,05$.

Табл. 5 наглядно демонстрирует, что, если до операции указанные показатели были в пределах нормальных значений, то в конце периода наблюдения отмечается повышение уровня показателей, характерных для воспалительного процесса. Причем наиболее значимые изменения зафиксированы в группе, получившей скаффолд с ФБ, вследствие выраженной воспалительной реакции в месте имплантации. Практически не изменились указанные показатели в группе 5 (быстрое отторжение аллогенного лоскута и формирование рубца) и группе 3.

В общем анализе мочи на этапе выведения животных из эксперимента обращает внимание присутствие большого количества солей, в основном – фосфатов, что мы связываем с особенностями рациона. Также отмечена эритроцитурия в случаях наличия в просвете пузыря отторгшейся матрицы. Выраженной лейкоцитурии или прочих воспалительных проявлений в общем анализе мочи зафиксировано не было. Со стороны

внутренних органов (кроме органов мочевыделительной системы) и лимфатических узлов визуально морфологических изменений не выявлено. Исключение составил один случай пневмонии, при котором определялись выраженные гнойные изменения бронхолегочной ткани.

Таким образом очевидно, что замещение дефекта мочевого пузыря кролика разработанной тканеинженерной конструкцией не вызвала выраженных отрицательных клинических, биохимических и морфологических изменений макроорганизма.

Жизнеспособность in situ введенных в область дефекта мочевого пузыря аллогенных стромальных клеток костного мозга в составе тканеинженерной конструкции через 2,5 месяца после операции

О жизнеспособности *in situ* введенных в область дефекта мочевого пузыря МСК в составе тканеинженерной конструкции косвенно можно судить по сохранению клеточных меток в месте имплантации в течение длительного времени после операции, по определению функциональной активности в месте имплантации, а также по наличию морфологического подтверждения процессов регенерации в месте имплантации с формированием идентичной нормальной гистологической структуры стенки МП.

Для определения железосодержащих меток в месте имплантации животным выполнена магнитно-резонансная томография в конце периода наблюдения (рис. 4).

В месте имплантации тканеинженерной конструкции, содержащей аллогенные МСК, в режиме t2 в сагиттальной и поперечной проекциях

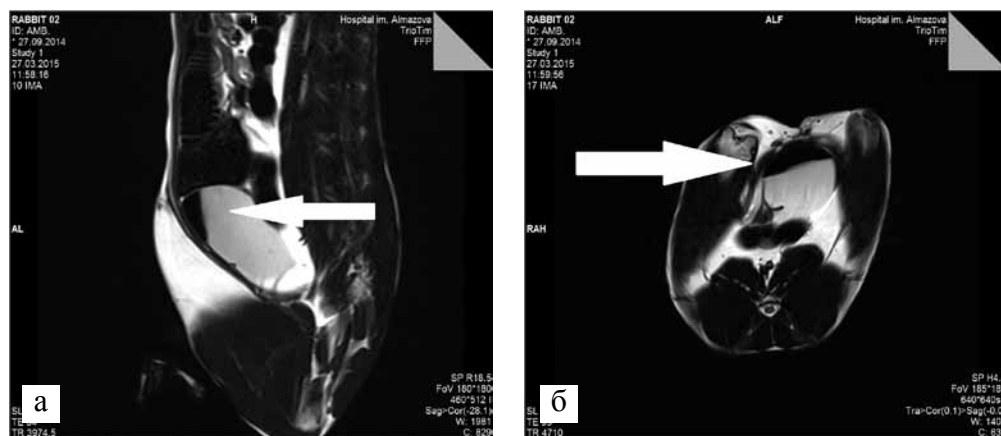


Рис. 4. Магнитно-резонансная томограмма мочевого пузыря кролика 3-й группы через 2,5 месяца после операции: а – режим t2_tse_sag_p2; б – режим t2_tse_tra_320_p2. Наводящий артефакт указан стрелками

хорошо виден наводящий артефакт от введенных в клетки железосодержащих меток.

У этого же животного ЭМГ-мониторинг стенки МП при наполнении выявил электрическую активность во время индуцированного мочеиспускания (рис. 5).

В процессе наполнения через 7–10 секунд ЭМГ активность низкой амплитуды зафиксирована не только в интактной части стенки МП, но и в месте обнаружения вновь сформированной слизистой. По сравнению с интактной частью стенки МП выявленная ЭМГ активность в зоне имплантации существенно ниже по своей длительности и магнитуде. Наличие мышечной активности в реконструированном участке стенки МП косвенно может подтверждать функциональную активность пересаженной тканеинженерной конструкции.

При конфокальной микроскопии криосрезов МП кроликов из группы 3 (МСК) в месте имплантации определяются меченые клетки, принимающие участие в формировании структуры, сходной с уротелием (рис. 6).

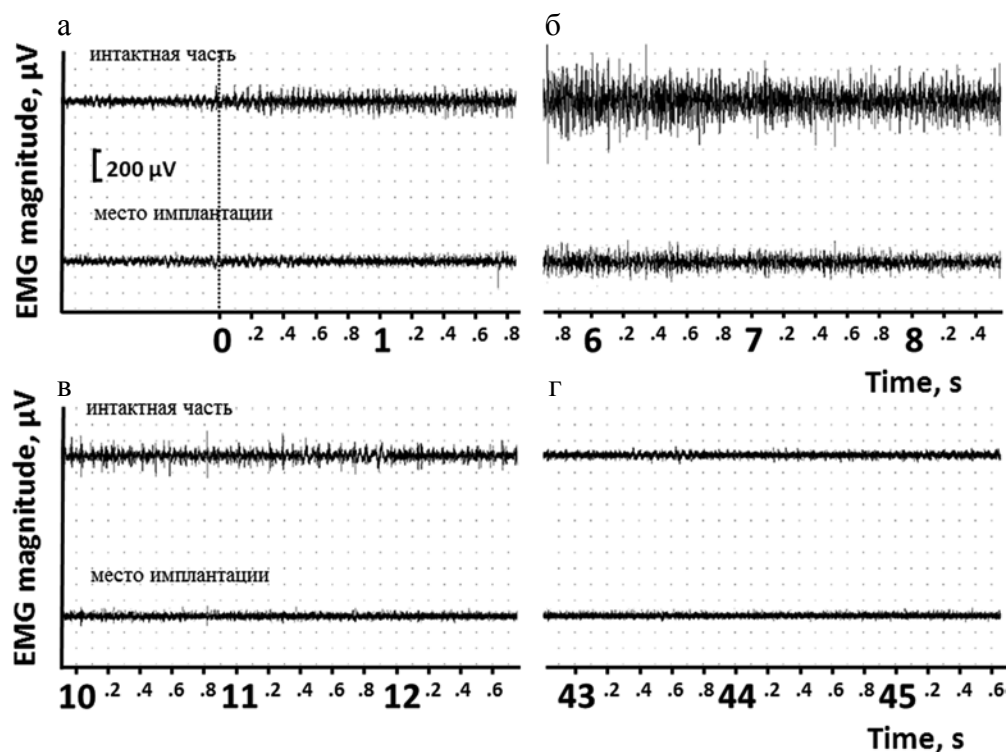


Рис. 5. Исследование электромиографической активности через 2,5 месяца после операции (группа 3): а – до наполнения мочевого пузыря; б – при индуцированном мочеиспускании; в – сразу после мочеиспускания; г – через 30 секунд после мочеиспускания

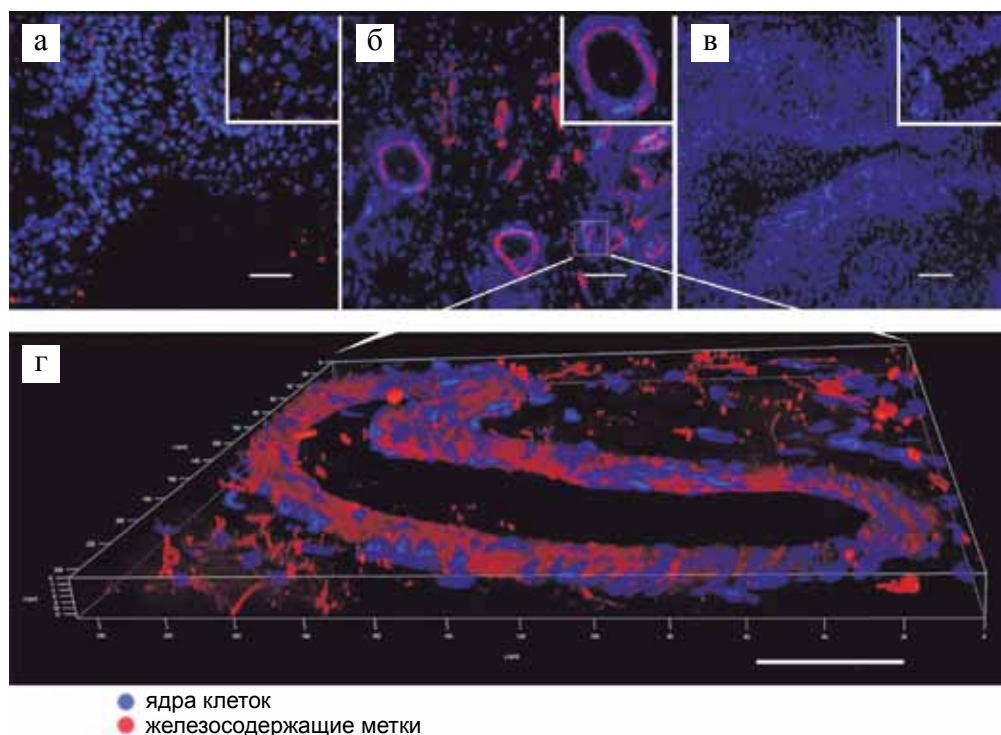


Рис. 6. Конфокальная микроскопия криосреза стенки мочевого пузыря в месте имплантации (группа 3): а – мышечная оболочка, масштаб 50 µm, б – железосодержащие метки во всех слоях, масштаб 100 µm, в – контроль, интактная стенка мочевого пузыря, масштаб 100 µm, г – увеличенное изображение немеченых клеток, и клеток, содержащих метки, ×20

На рисунке хорошо видны ядра клеток, окрашенные синим цветом (краситель DAPI), которые образуют многослойную структуру в месте имплантации. Также во всех слоях стенки МП на представленных криосрезах определяются железосодержащие наночастицы SPION в виде включений красного цвета.

Таким образом, можно заключить, что разработанная тканеинженерная конструкция, содержащая аллогенные МСК костного мозга кролика, сохраняет жизнеспособность *in situ* через 2,5 месяца после его имплантации в дефект мочевого пузыря.

Заключение

В урологической практике существует множество патологических состояний, требующих частичного или полного замещения мочевого пузы-

ря. Поэтому поиск подходящего материала для замещения МП с последующим заселением его клетками является перспективным решением. В проведенном исследовании использовались аллогенные МСК, которые обладают уникальным иммуномодулирующим действием и способны дифференцироваться в различные клеточные линии.

Изучение свойств различных по своей структуре и составу трехмерных полилактидных скаффолдов привело к выбору композитной матрицы на основе поли-L,L-лактида, укрепленного фиброином шелка 1 : 1 и порытого снаружи непроницаемой поли-L,L-лактидной пленкой.

При замещении дефекта мочевого пузыря кролика с помощью полученных тканеинженерных конструкций, содержащих аллогенные клетки, не выявлено клинических и морфологических изменений в органах и тканях макроорганизма. Мы не обнаружили признаков отторжения МСК-содержащего скаффолда, в отличие от остальных групп. Более того при имплантации скаффолда, заселенного МСК подтверждено формирование морфологически схожей с нормальной структуры стенки МП (слизистая, подслизистая, мышечная и адвентициальная оболочки и сосуды). Можно предположить, что введенные в скаффолд МСК не только стимулировали миграцию собственных клеток организма в место дефекта, но и сами частично дифференцировались в необходимые клеточные линии. Методом МРТ удалось визуализировать меченые клетки в месте имплантации в виде наводящего артефакта. Неожиданной находкой явилось присутствие меток только в зоне имплантации, что можно трактовать, как отсутствие миграции клеток в окружающие ткани. Наличие меток во всех слоях мочепузырной стенки при полном их отсутствии в интактной зоне также подтверждено данными конфокальной микроскопии криосрезов стенки МП.

Таким образом, применение тканеинженерной конструкции, состоящей из композитной ПЛ-Ф матрицы и аллогенных стромальных клеток костного мозга кролика, оказалось эффективным для реконструкции экспериментального дефекта мочевого пузыря. Восстановление морфологической структуры стенки МП подтверждено гистологически. Проведенный эксперимент показывает необходимость дальнейших исследований в области реконструкции стенки МП. Разработка методик создания многокомпонентного композита с использованием аллогенных клеток может способствовать улучшению результатов лечения патологий, при которых не представляется возможным получение аутологичного материала. Однако вопрос возможности применения МСК в клинической практике пока остается открытым, уникальные свойства этих клеток до сих пор полностью не изучены и представляют собой огромный научный интерес. Полного понимания механизмов, отвечающих за их защитные и регенеративные эффекты, пока не достигнуто. Полученные результаты, хоть и являются обнадеживающими, но требуют дальнейшего изучения.

Выводы

1. Наиболее благоприятными для замещения дефекта мочевого пузыря физико-механическими свойствами обладает разработанная композитная матрица на основе поли-L,L-лактида с фиброином шелка (1 : 1), имеющая наружный водонепроницаемый слой из поли-L,L-лактида.
2. Разработанная композитная матрица, содержащая аллогенные стромальные клетки костного мозга, подвергается резорбции на 50% за 3 недели.
3. Замещение дефекта мочевого пузыря разработанной композитной матрицей, заселенной аллогенными стромальными клетками костного мозга, не приводит к ее отторжению в 83% случаев. Композитные матрицы без клеточного наполнения и содержащие аллогенные фибробласты, гладкие миоциты и уротелий отторгались в 100% случаев.
4. Замещение дефекта мочевого пузыря разработанной тканеинженерной конструкцией, не вызывает выраженных отрицательных клинических проявлений и изменений лабораторных показателей в течение 3,0 месяцев после операции.
5. Жизнеспособность *in situ* введенных в область дефекта мочевого пузыря аллогенных стромальных клеток костного мозга в составе тканеинженерной конструкции сохраняется в течение 2,5 месяцев.

Практические рекомендации

1. В качестве основы для экспериментального замещения мочевого пузыря подходит композитная матрица, состоящая из поли-L,L-лактида и фиброина шелка (1 : 1), покрытая с наружной стороны водонепроницаемой пленкой из поли-L,L-лактида.
2. В качестве аллогенного клеточного источника для создания тканеинженерного аналога стенки мочевого пузыря целесообразно использовать стромальные клетки костного мозга.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Проведенное диссертационное исследование является только начальным звеном на пути решения проблемы реконструкции мочевого пузыря с применением тканевой инженерии и клеточных технологий.

Возможность успешного замещения дефекта мочевого пузыря многокомпонентной конструкцией дает предпосылки для замещения всего органа тканеинженерным резервуаром.

Важным направлением является разработка методики идентификации введенных в МСК меток при гистологическом исследовании, что даст

полное понимание процессов клеточной миграции и дифференцировки в зоне имплантации.

До внедрения разработанных технологий в клиническую практику необходимо досконально изучить природу уникальных свойств мезенхимальных стволовых клеток.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Муравьев А.Н., Орлова Н.В., Блинова М.И., Юдинцева Н.М. Тканевая инженерия в урологии, новые возможности для реконструкции мочевого пузыря // Цитология. – 2015. – 57 (1). – С. 14–18.
2. Orlova N.V., Vinogradova T.I., Muravjev A.N., Semenova N.Y., Yuditceva N.M., Nashchekina J.A., Blinova M.I., Vitovskaja M.L., Zabolotnih N.V., Shejkhov M.G. Application of allogeneic cells of different origin for bladder reconstruction // ESGCT and FSGT Collaborative Congress (Helsinki, Finland, 17–20 September 2015). – 2015. – A 85.
3. Yuditceva N.M., Nashchekina J.A., Blinova M.I., Shevtsov M.A., Orlova N.V., Vinogradova T.I., Muravjev A.N. Application of allogeneic bone marrow stromal cells on the urology // ESGCT and FSGT Collaborative Congress (Helsinki, Finland, 17–20 September 2015). – 2015. – A 86.
4. Орлова Н.В., Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Блюм Н.М., Семенова Н.Ю., Юдинцева Н.М., Нашекина Ю.А., Блинова М.И., Шевцов М.А., Витовская М.Л., Заболотных Н.В., Шейхов М.Г. Экспериментальная реконструкция мочевого пузыря кролика с использованием аллогенных клеток различного тканевого происхождения // Медицинский Альянс. – 2016. – № 1. – С. 50–52.
5. Yuditceva N.M., Nashchekina Y.A., Blinova M.I., Orlova N.V., Muraviov A.N., Vinogradova T.I., Sheykhov M.G., Shapkova E.Y., Emeljannikov D.V., Yablonskii P.K., Samusenko I.A., Mikhrina A.L., Pakhomov A.V., Shevtsov M.A. Experimental bladder regeneration using a poly-L-lactide/silk fibroin scaffold seeded with nanoparticle-labeled allogenic bone marrow stromal cells // International Journal of Nanomedicine. – 2016. – Т. 11. – P. 4521–4533.
6. Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Юдинцева Н.М., Нашекина Ю.А., Шевцов М.Г., Яблонский П.К. Положительный опыт трансплантации многокомпонентного композита, содержащего аллогенные мезенхимальные стволовые клетки, после резекции стенки мочевого пузыря кролика // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95. – № 6. – С. 45–50.
7. Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Муравьев А.Н., Блинова М.И., Юдинцева Н.М., Нашекина Ю.А., Заболотных Н.В., Лебедев А.А., Шейхов М.Г., Горелова А.А., Горелов А.И., Попов С.В., Яблонский П.К. Результаты применения тканеинженерных конструкций с аллогенными клетками различного тканевого происхождения в экспериментальной реконструкции мочевого пузыря // Медицинский альянс. – 2018. – № S3. – С. 148–150.
8. Орлова Н.В., Виноградова Т.И., Блинова М.И., Юдинцева Н.М., Нашекина Ю.А., Муравьев А.Н., Заболотных Н.В., Лебедев А.А., Шейхов М.Г., Горелова А.А., Горелов А.И., Попов С.В., Яблонский П.К. Сравнение результа-

- тов применения тканеинженерных конструкций с включением аллогенных клеток различного тканевого происхождения в экспериментальной реконструкции мочевого пузыря // Гены и Клетки. – 2018. – № 1 (Приложение). – С. 90–91.
9. **Orlova N.V.**, Muraviov A.N., Vinogradova T.I., Yuditceva N.M., Nashchekina Yu.A., Zabolotnih N.V., Lebedev A.A., Sheykhov M.G., Yablonsky P.K. Experimental urinary bladder reconstruction using allogeneic tissue engineering products // Cellular Therapy and Transplantation. – 2019. – Vol. 8. – № 2. – P. 68–73.
 10. **Орлова Н.В.**, Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Юдинцева Н.М., Нащекина Ю.А., Заболотных Н.В., Лебедев А.А., Шейхов М.Г., Яблонский П.К. Положительный опыт трансплантации многокомпонентного композита, содержащего аллогенные мезенхимальные стволовые клетки после резекции стенки мочевого пузыря кролика (описание эксперимента) // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. – № 4. – С. 26–30. doi: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-26-30.
 11. **Орлова Н.В.**, Муравьев А.Н., Виноградова Т.И., Юдинцева Н.М., Нащекина Ю.А., Лебедев А.А., Шейхов М.Г., Яблонский П.К. Замещение дефекта мочевого пузыря кролика с использованием аллогенных тканеинженерных продуктов // Гены & Клетки. – 2019. – Том XIV (Приложение). – С. 172.
 12. **Орлова Н.В.** Аллогенные тканеинженерные продукты в экспериментальной реконструкции мочевого пузыря: возможности применения // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2019. – № 5. – С. 318–325.

Список сокращений и условных обозначений

АЛ	– аллогенный лоскут
БМ	– бесклеточная матрица
ГМК	– гладкомышечные клетки
МП	– мочевого пузыря
МСК	– мезенхимальные стромальные клетки костного мозга
МРТ	– магнитно-резонансная томография
ПЛ	– поли-L,L-лактид
ПЛ + Ф	– поли-L,L-лактид, укрепленный фиброином шелка
ПЛ + Ф(Н)	– поли-L,L-лактид, укрепленный фиброином шелка и непроницаемой пленкой
ПЛ + Ц	– поли-L,L-лактид, укрепленный целлюлозой
У	– уротелий
ФБ	– фибробласты
ЭМГ	– электромиография
DAPI	– 4,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
SPION	– superparamagnetic iron oxid nanoparticles

ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗЪЯТИЕ ЛЕВОГО ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕКТОРА ПЕЧЕНИ У ПРИЖИЗНЕННОГО ДОНОРА

Сёмаш К.О., 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

В педиатрической практике трансплантация фрагментов печени позволяет достичь высоких результатов [Bowring M.G., 2020] и, при этом, полностью гарантировать безопасность родственных доноров. В то же время, при выполнении трансплантации «взрослый – ребенок», практически отсутствуют этические вопросы, поскольку, чаще всего, донором является один из родителей реципиента. Тем не менее, важной задачей остается создание условий для ускорения реабилитации и минимизации хирургической травмы у донора, в этой связи, внедрение миниинвазивных методов имеет особое значение.

В последние два десятилетия миниинвазивные подходы к резекциям печени прочно вошли в арсенал крупных гепатобилиарных центров. Это стало возможным благодаря накопленному опыту открытой хирургии печени, а также технологическому прогрессу [Morise Z., 2017]. Однако применение лапароскопического подхода у родственных доноров фрагментов печени по-прежнему остается предметом живого интереса в трансплантологических центрах всего мира. Первые сравнительные исследования оказались весьма обнадеживающими и продемонстрировали перспективность этого подхода [Broering D.C., 2018]. Накопление подобного опыта, анализ кривой обучения, стандартизация хирургической техники по-прежнему являются важными вопросами развития данного направления.

В России лапароскопическое изъятие фрагмента печени для последующей трансплантации было впервые выполнено в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. Академика В.И. Шумакова» в 2016 году. Также, в России впервые в мире произведено полностью лапароскопическое изъятие одновременно фрагмента печени и почки для последующей трансплантации детям [Готье С.В., 2016, Gautier S.V., 2019].

Цель исследования

Оптимизация хирургической техники и результатов лапароскопического изъятия левого латерального сектора у прижизненных доноров фрагмента печени на основании анализа накопленного опыта.

Задачи исследования

1. Сравнить результаты открытого и лапароскопического изъятия левого латерального сектора у прижизненных доноров.
2. Определить критерии селекции прижизненных доноров для лапароскопического изъятия левого латерального сектора печени.
3. Стандартизировать хирургическую технику выполнения лапароскопической латеральной секторэктомии печени.
4. Оценить результаты трансплантации левого латерального сектора, полученного открытым и лапароскопическим путем, у реципиентов.
5. Изучить кривую обучения выполнения лапароскопической латеральной секторэктомии печени у родственного донора.

Научная новизна

На сегодняшний день, лапароскопическое изъятие левого латерального сектора печени у прижизненных доноров выполняется лишь в нескольких центрах в мире. Суммарный накопленный опыт по всему миру не превышает 500 операций. В настоящее время, по данным литературы, существует лишь несколько исследований, посвященных данной тематике. Проведение псевдорандомизации позволило объективизировать результаты и увеличить их достоверность. Изучение кривой обучения выполнения лапароскопической латеральной секторэктомии печени позволяет оценить потенциал внедрения данной методики в клинические центры.

Новыми являются данные сравнительного анализа клинических результатов проведения открытого и лапароскопического изъятия левого латерального сектора печени у живых доноров, а также сравнительного анализа результатов трансплантаций у реципиентов, получивших соответствующие трансплантаты.

Новыми являются разработанные рекомендации по селекции доноров для лапароскопического изъятия левого латерального сектора.

Впервые разработаны алгоритмы, протоколы и рекомендации по выполнению хирургического вмешательства лапароскопической резекции левого латерального сектора печени у родственного донора.

Практическая значимость исследования

Впервые в России на основании доказательной медицины установлена клиническая эффективность и безопасность лапароскопической левой латеральной секторэктомии у прижизненных доноров фрагмента печени. Разработана и стандартизирована хирургическая техника, позволяющая максимально снизить интра- и послеоперационные осложнения у доноров левого латерального сектора печени, а также получать трансплантаты высокого качества.

Внедрение научных разработок в клиническую практику позволит:

- обезопасить хирургическое пособие у доноров путем снижения интраоперационной кровопотери и минимизации хирургической травмы;
- ускорить послеоперационную реабилитацию у доноров;
- получить хороший косметический эффект после оперативного пособия.

Методология и методы исследования

В исследовании проведен статистический анализ клинических данных, результатов оперативного вмешательства, лабораторных и инструментальных исследований до, во время и после резекции левого латерального сектора печени у родственных доноров и трансплантации левого латерального сектора детям. Проведен статистический анализ клинических данных, результатов трансплантаций левого латерального сектора печени у реципиентов, получивших трансплантат от доноров, оперированных открыто и лапароскопически.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Лапароскопическое изъятие левого латерального сектора является эффективным и безопасным методом, позволяющим уменьшить операционную травму и ускорить реабилитацию, а также получить хороший косметический эффект.
2. Результаты трансплантации левого латерального сектора печени детям от доноров, оперированных лапароскопически, сопоставимы с аналогичными от доноров, оперированных по классической открытой методике.
3. Унификация хирургической методики позволяет уменьшить длительность операции, а также позволяет добиться максимального снижения интра- и послеоперационных осложнений у доноров.
4. Более строгая селекция доноров для лапароскопического изъятия левого латерального сектора позволяет снизить риск интраопера-

ционных осложнений на этапе становления методики и наработки хирургического опыта.

Степень достоверности и апробация результатов

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

Апробация работы состоялась 15 июля 2020 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 (ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России) и кафедры трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый осковский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на III Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2017 г.), на 15-м международном конгрессе по донорству органов (ISODP, Дубай, ОАЭ), на 10-м Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2020 г.), и на международном съезде трансплантологического общества (The Transplantation Society, Сеул, Южная Корея, 2020 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования используются 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 онкологии и детской хирургии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в образовательной программе кафедры трансплантологии и искусственных органов Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый осковский государственный медицинский универ-

ситет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Материалы и методы исследования

Всего в исследование включены 480 пациентов, из них:

- 140 доноров левого латерального сектора печени, которым была выполнена операция классическим способом (открыто);
- 100 доноров левого латерального сектора печени, которым была выполнена операция лапароскопическим способом;
- 240 реципиентов – дети, получившие трансплантат левого латерального сектора.

Донорами левого латерального сектора печени стали генетические родственники пациентов (91 мужчин и 149 женщин) в возрасте от 18 до 43 ($30 \pm 5,8$) лет.

Среди прооперированных 240 реципиентов левого латерального сектора печени наблюдалось 110 пациентов мужского пола (45,8%) и 130 женского (54,2%), в возрасте от 4 месяцев до 9 лет ($11,9 \pm 13,2$ месяцев), с массой тела от 4,2 до 20 кг ($7,9 \pm 2,5$ кг).

Все операции проведены в Национальном медицинском исследовательском центре трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова Минздрава России в период с мая 2016-го по январь 2020 года.

Для получения максимальной однородности групп проведен метод псевдорандомизации (Propensity Score Matching) в отношении: 1 : 1, где каждому донору, оперированного по открытой методике подобран донор, оперированный открыто. Для этого применялась логистическая регрессия на основании возраста донора, индекса массы тела донора, даты оперативного вмешательства, возраста реципиента, веса реципиента, количества баллов по шкале PELD. Таким образом, сформировано 200 пар «донор–реципиент», 100 пар вошло в группу открытого донорского изъятия левого латерального сектора печени, и, соответственно, 100 пар – в группу лапароскопического.

Статистический анализ всех данных осуществлялся при помощи стандартных методов статистической обработки с использованием пакета прикладных программ для расчетов IBM SPSS STATISTICS V23.0 (IBM SPSS Inc., США), Microsoft Office Excel (Microsoft, США).

Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm S.D.$), также данные представлялись как верхние и нижние границы 95%-ого доверительного интервала (95% ДИ) для параметрических и как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. Достоверность различий количественных параметров в группах сравнения определялась по точному критерию Фишера. Для

проведения сравнительного анализа качественных значений в исследуемых группах проводился U-тест Манна–Уитни, а также рассчитывался t-критерий Стьюдента. Кривая обучения рассчитывалась по методике линейной регрессии. Выживаемость рассчитывалась с использованием процедуры Каплана–Майера. Для измерения переменных с интервальной и количественной шкалами применялся коэффициент корреляции Пирсона. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Также в работу включены особенности селекции потенциальных родственных доноров для выполнения лапароскопической резекции левого латерального сектора. Детально описана стандартизированная хирургическая техника левой латеральной секторэктомии печени, разработанная в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова», особенности послеоперационного наблюдения доноров.

Хирургическая техника лапароскопической левой латеральной секторэктомии печени. Технические аспекты

Для выполнения операции применялись:

- видеохирургическая стойка с возможностью получения изображения высокого разрешения (видеоголовка трехматричная IMAGE1 S H3-Z FI FULL HD, видеопроцессор AIDA, Karl Storz)
- крупноформатный оптический преобратователь HOPKINS® переднебокового видения с углом обзора до 30°;
- инсуффлятор ENDOFLATOR с возможностью подачи углекислого газа до 30 литров в минуту и с опцией подогрева инсуффлируемого газа;
- ирригатор-аспиратор ENDOMAT® по HAMOU® SCB с педалью для регулировки подаваемой жидкости;
- источник холодного света XENON 300 SCB с подключаемым оптоволоконным световодом.

Для диссекции тканей и разделения паренхимы применялись следующие электроинструменты:

- гармонические щипцы HARMONIC® HD 1000i Shears (Ethicon);
- гармонические щипцы HARMONIC ACE®+ (Ethicon)
- биполярный окончатый зажим (МФС, Казань);
- биполярный зажим Botella Bipolar Forcep Jaw Insert (MicroFrance);
- ультразвуковой кавитационный деструктор со встроенным аспиратором CUSA Excel® (Cavitation Ultrasound Surgical Aspirator, Integra).

При работе с сосудами использовались клипс-аппликаторы с клипсами Hem-o-Lok размерами XL, L, M (TFX Medical Ltd., RTP Durham, NC, USA), многозарядные пневматические клиппаторы Aesculap Challenger с

размерами клипс 5 и 10 мм, а также классический 10-миллиметровый однозарядный клипс-аппликатор (Karl Storz). Для пересечения печеночной вены применялся сшивающий аппарат Echelon Flex Endopath (Ethicon) с кассетой, адаптированной для сосудистого шва.

Для изъятия полученного трансплантата использовался порт для мануальной ассистенции Endopath Dextrus (Ethicon)

Расположение пациента на операционном столе

Пациента располагали на операционном столе в положении Фаулера (инвертированном положении Тренделенбурга), при этом угол стола по отношению к полу составлял до 45°. Ноги пациента были разведены (французское положение).

Такое положение пациента на столе дает возможность проводить операцию при помощи так называемого каудального подхода, то есть доступ к афферентным сосудам печени происходит снизу вверх, тем самым давая наиболее удобство и безопасность для их мобилизации.

Оперирующий хирург и оператор камеры располагались между ног пациента. Ассистенты располагались по левому и правому боку пациента.

Расстановка троакаров

Троакары устанавливали по схеме, представленной на рис. 1: 10-миллиметровый порт для оптического преобразователя устанавливался параумбиликально, один 5-миллиметровый троакар – субкисфоидално, в подреберье справа. Другой 5-миллиметровый троакар устанавливался в эпигастральной области; 11-миллиметровый порт – слева по параректальной линии; 12-миллиметровый – в правом подреберье по передней аксилярной линии (рис. 1, а).

Мобилизация печени и диссекция элементов гепатодуоденальной связки

Карбоксиперитонеум нагнетался при помощи инсуффлятора, подключенного в 11-миллиметровый троакар. Целевое значение ВБД составляло 12 миллиметров ртутного столба. После детальной ревизии брюшной полости печень мобилизовалась путем рассечения круглой, серповидной, коронарной и левой треугольной связок при помощи гармонических щипцов. Далее проводилось выделение устьев срединной и левой печеночных вен (ЛПВ). Затем проводили поверхностное рассечение капсулы печени и верхних слоев паренхимы, таким образом намечая линию будущей резекции. Обычно данная граница проходила на расстоянии 3–5 мм правее серповидной связки и шла по направлению к медиальной стенке ЛПВ (рис. 1, б).

После этого проводили ротацию левого латерального сектора против часовой стрелки, что позволяло детально визуализировать элементы печеночно-желудочной и гепатодуоденальной связки, а также проксимальную стенку левой печеночной вены. Для удобства данного маневра операционный стол поворачивали на правый бок под углом 30–35°.

Затем переходили к мобилизации печеночно-двенадцатиперстной связки, в составе которой тщательно скелетезировали левую печеночную артерию (ЛПА), до бифуркации собственной печеночной артерии и брали ЛПА на держалку.

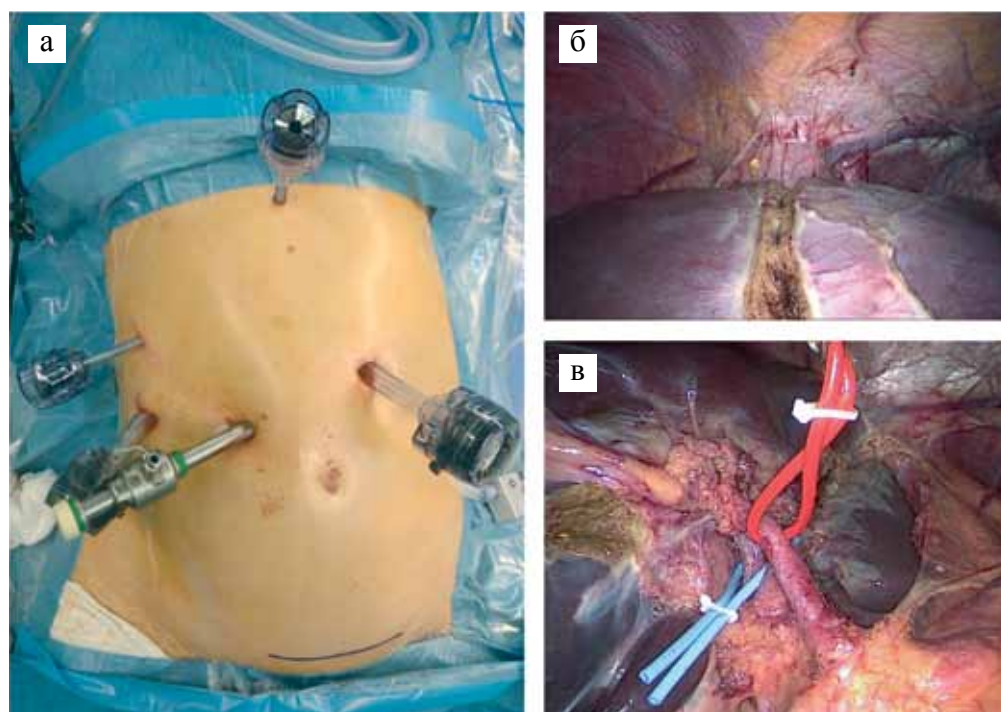


Рис. 1: а – расстановка троакаров; б – разметка линии разделения паренхимы; в – на красной держалке циркулярно мобилизована левая печеночная артерия, на синей держалке циркулярно мобилизована левая ветвь воротной вены

Если артериальное кровоснабжение ЛЛС было за счет ветви левой желудочной артерии, то мобилизовали и брали на держалку данную ветвь. При наличии двойного артериального кровоснабжения, циркулярно мобилизовались оба сосуда. Далее проводилось выделение, клипирование и пересечение коротких ветвей, идущих от левой ветви воротной вены к первому сегменту печени, а затем и коротких венозных ветвей от sinus Rehi к четвертому сегменту печени, что обеспечивало возможность цир-

кулярно ее выделить и также взять на держалку на уровне бифуркации. Таким образом, афферентные сосуды, кровоснабжающие левый латеральный сектор, были полностью мобилизованы (рис. 1, в). Предварительная циркулярная мобилизация левой печеночной вены до разделения паренхимы печени никогда не проводилась, поскольку это с большой долей вероятности могло привести к массивному кровотечению, которое было бы крайне трудно контролируемо.

Разделение паренхимы

Непосредственно перед разделением паренхимы, при помощи гармонического скальпеля между аранцевым протоком и первым сегментом печени формировалась своеобразная фиссура от начала протоковой зоны до уровня левой печеночной вены для облегчения мобилизации левого желчного протока и транссекции паренхимы (см. рис. 2, а).

После мобилизации элементов печеночно-двенадцатиперстной связки левый латеральный сектор ротировался в исходное положение, и выполнялась транссекция паренхимы печени при помощи биполярной коагуляции, гармонического скальпеля и ультразвукового диссектора в условиях сохраненного кровотока. Важно отметить, что разделение паренхимы печени проводилось в условиях относительной гиповолемии пациента, центральное венозное давление обычно составляло менее 3–4 мм водн. ст. Это позволяло минимизировать кровопотерю и обеспечить оптимальные условия для работы ультразвукового деструктора.

С целью обеспечения максимальной безопасности при разделении паренхимы печени использовался ультразвуковой кавитационный деструктор со встроенным аспиратором, что позволяло безопасно выполнять диссекцию паренхимы без риска повреждения крупных сосудистых структур.

Во время выполнения разделения паренхимы осуществлялась тракция за круглую связку печени через эпигастральный троакар, что давало дополнительную возможность ориентировать плоскость разделения таким образом, чтобы обеспечить оптимальную визуализацию диссекцию паренхимы по принципу «открытой книги».

Сосудистые элементы клипировались и пересекались. Плоскость резекции выходила на устье левой печеночной вены.

В процессе транссекции паренхимы обнажалась порталная пластинка, в составе которой проходил желчный проток и парапротоковые сосуды (рис. 2, б). Портальная пластинка обходилась при помощи тесьмы для обеспечения безопасного рассечения, клипировалась с двух сторон клипсами Hem-o-lock XL, а затем пересекалась ножницами между клипс.

В конце разделения паренхимы, левая печеночная вена циркулярно обходилась и бралась на держалку для обеспечения безопасности и удобства тракции при последующем пересечении. На этом этап диссекции парен-

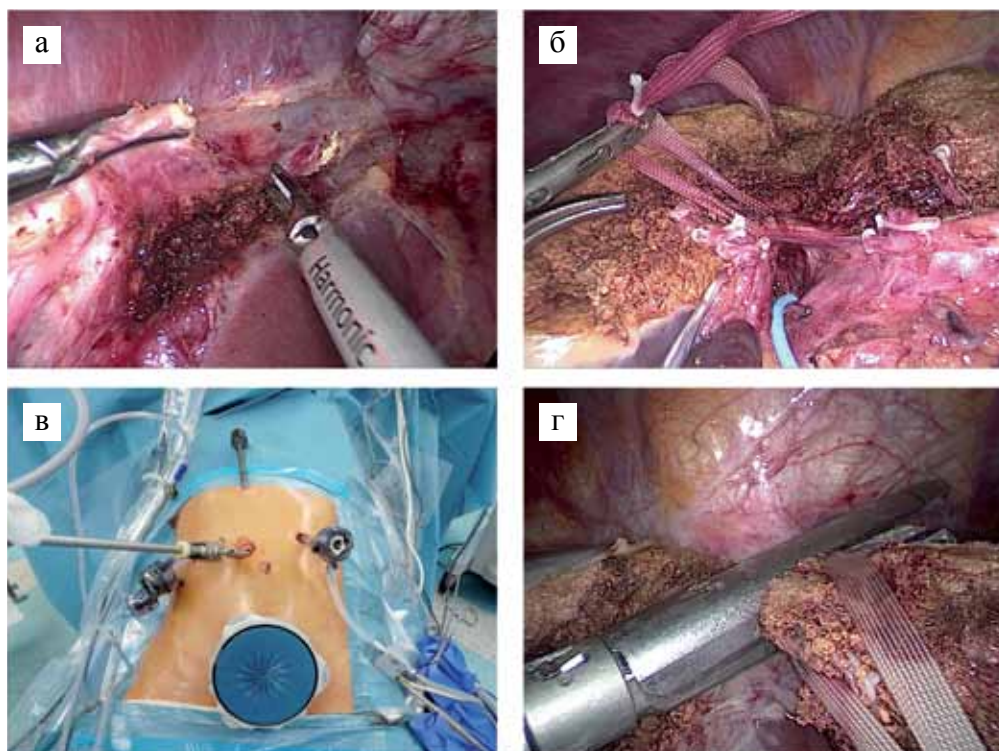


Рис. 2: а – формирование фиссуры для облегчения транссекции паренхимы и интрапаренхиматозной мобилизации желчного протока; б – разделение паренхимы печени, на тканевой держалке циркулярно мобилизована портальная пластинка, в толще которой проходит желчный проток; в – установлен порт для мануальной ассистенции; г – левая печеночная вена, взятая на держалку, отсекается при помощи сшивающего аппарата

химы печени заканчивался и начинался этап подготовки к эксплантации левого латерального сектора.

Изъятие трансплантата

После того как трансплантат остается связанным лишь афферентными сосудами и левой печеночной веной, выполнялся доступ 6–9 см по Пфанненштилю с установкой порта для мануальной ассистенции (рис. 2, в). Далее, через мануальный порт проводился лапароскопический зажим и накладывался на круглую связку. После этого, непосредственно, проводилось изъятие трансплантата: левая воротная вена и левая печеночная артерия клипировались клипсами и пересекались, левая печеночная вена пересекалась сшивающим аппаратом (рис. 2, г). Левый латеральный сек-

тор извлекался из брюшной полости при помощи тракции за ранее установленный лапароскопический зажим через порт для мануальной ассистенции.

Далее, проводилась консервация трансплантата на дополнительном операционном столике, и трансплантат в стерильных условиях передавался в соседнюю операционную для последующей имплантации реципиенту.

На завершающем этапе операции брюшная полость санировалась, проводился тщательный гемо- и билиостаз раневой поверхности печени. В большинстве случаев к раневой поверхности печени устанавливался страховочный дренаж. Троярные проколы ушивались с апоневрозом используя иглу Берси (Берчи), разрез по Пфаненштилю ушивался послойно.

Результаты исследования

Характеристика клинических результатов у прижизненных доноров фрагмента печени

В период с мая 2016-го по январь 2020 года в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России выполнено 242 донорских резекции левого латерального сектора печени. Из них, 140 донорам левого латерального сектора печени операция была выполнена классическим способом (открыто), а 102 – лапароскопическим. У одного донора из группы лапароскопического изъятия была конверсия в связи с кровотечением из воротной вены, данный пациент не был включен в выборку. Также, впервые в мире в нашем центре была выполнена симультанная резекция левого латерального сектора и левосторонняя нефрэктомия у родственного донора. Данный случай также исключен из нашей выборки, поскольку выполнялись одновременно два больших хирургических вмешательства.

Клинические характеристики доноров представлены в табл. 1. Так, по результатам проведенного статистического анализа, возраст доноров достоверно не отличался в группах сравнения как до, так и после проведения псевдорандомизации ($p = 0,33$ и $p = 0,129$ соответственно).

Мужчин и женщин в первой группе было примерно одинаковое количество (53,6 и 46,4% соответственно), во второй же превалировало количество женщин (84%). Средний индекс массы тела доноров статистически отличался, а именно, в группе исследования он составил $21,2 \pm 2,7$ (в группе сравнения – $22,5 \pm 2,8$, $p = 0,001$).

Наибольший интерес представляет исследование периоперационных характеристик прижизненных доноров. У доноров оценивались следующие показатели: длительность операции, интраоперационная кровопотеря, масса полученного трансплантата, количество желчных протоков у трансплантата. Полученные результаты также представлены в табл. 3.

Таблица 1

Характеристика клинических результатов у прижизненных доноров фрагмента печени

Данные		Группы доноров до псевдорандомизации			Группы доноров после псевдорандомизации		
		Лапароскопические (n = 100)	Открытые (n = 140)	p знач.	Лапароскопические (n = 100)	Открытые (n = 100)	p знач.
Возраст (лет)	М	29,1 ± 5,6	30,81 ± 6	0,33	29,1 ± 5,6	30,4 ± 5,9	0,129
	Ж	16 (16%)	75 (53,6%)	<0,001	16 (16%)	55 (55%)	<0,001
Индекс массы тела	М	84 (84%)	65 (46,4%)		84 (84%)	45 (45%)	
	Ж	21,2 ± 2,7	23 ± 3	<0,001	21,2 ± 2,7	22,5 ± 2,8	0,001
Время операции, минут	М	262,1 ± 60,5	302 ± 61	<0,001	262,1 ± 60,5	292,3 ± 76	0,001
	Ж	87,4 ± 68	180,8 ± 72	<0,001	87,4 ± 68	177 ± 76	<0,001
Кровопотеря, мл	М	54 (54%)	63 (45%)		54 (54%)	44 (44%)	
	Ж	44 (44%)	61 (43,6%)	0,051	44 (44%)	45 (45%)	0,055
Кол-во желчных протоков	М	2 (2%)	16 (11,4%)		2 (2%)	11 (11%)	
	Ж	259,4 ± 53,2	289,2 ± 58,9	<0,001	259,4 ± 53,2	282,1 ± 56,8	0,004
Вес трансплантата	М	3,6 ± 1,1	4,9 ± 1,4	<0,001	3,6 ± 1,2	4,7 ± 1,4	<0,001
	Ж	1,2 ± 1,1	2,0 ± 1,7	<0,001	1,2 ± 1,1	2 ± 1,3	<0,001
Интенсивность боли на 1-е послеоперационные сутки	М	209,5 ± 123	290,8 ± 95,7	<0,001	209,5 ± 123	288,4 ± 91,2	<0,001
	Ж	114,9 ± 66,3	140 ± 54,6	0,002	114,9 ± 66,3	142,9 ± 59	0,002
Уровень АЛТ на 1 послеоперационные сутки	М	175,3 ± 73,1	190 ± 65	0,084	175,3 ± 73,1	186 ± 59,5	0,258
	Ж	91 ± 45,3	99,4 ± 40,4	<0,001	91 ± 45,3	101,9 ± 44,2	0,088
Уровень АСТ на 3 послеоперационные сутки	М	0	3 (2,1%)	0,142	0	1 (1%)	0,317
	Ж	1 (1%)	5 (3,6%)	0,209	1 (1%)	2 (2%)	0,562
Осложнения по классификации Clavien-Dindo	М	1 (1%)	5 (3,6%)	0,209	1 (1%)	4 (4%)	0,175
	Ж	1 (1%)	1 (0,7%)	0,811	1 (1%)	0	0,317
Время нахождения в стационаре, дни	М	4,5 ± 1,6	7,6 ± 3,3	<0,001	4,5 ± 1,6	7,5 ± 2,7	<0,001
	Ж						

Исходя из полученных данных, среднее время открытой левой латеральной секторэктомии составило 292 ± 76 минуты, при этом время лапароскопической резекции левого латерального сектора не превышало $262 \pm 60,5$ минуты ($p < 0,001$).

Средняя кровопотеря в лапароскопическом исполнении резекции не превышала $87,4 \pm 68$ мл, что является достоверно меньше, чем при открытом оперативном пособии (177 ± 76 мл, $p < 0,001$) (см. рис. 3).

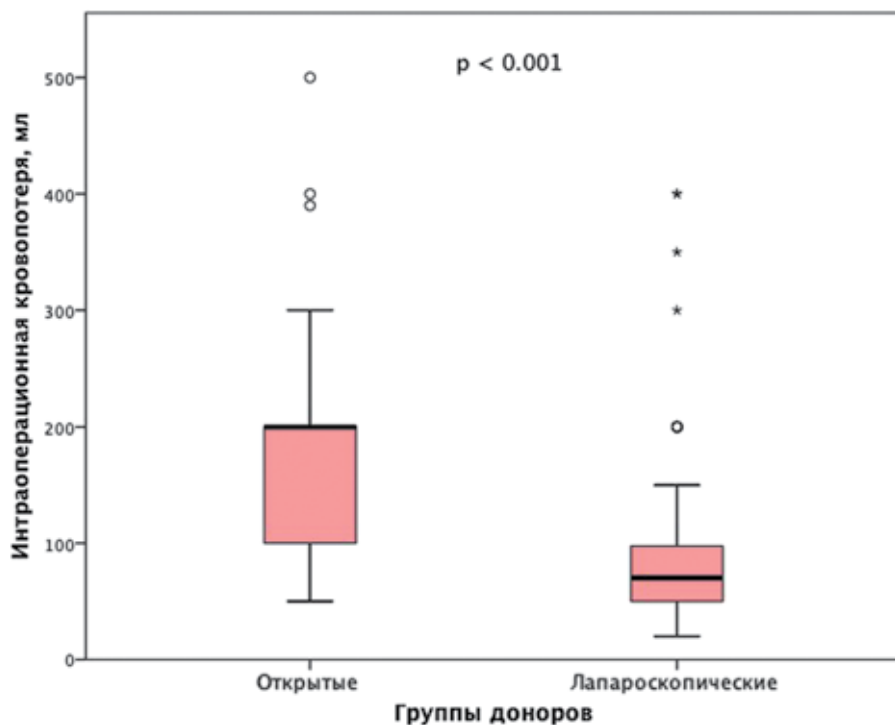


Рис. 3. Сравнение кровопотери при открытой и лапароскопической резекции ЛЛС

Средний вес трансплантатов, полученных лапароскопическим способом, составлял $259 \pm 53,2$ граммов, в сравнении с трансплантатами, полученных при открытой операции, где средний вес был равен $282,1 \pm 56,8$. Разница в весе трансплантатов является статистически значимой ($p = 0,004$).

Что касается количества желчных протоков, то градация проводилась следующим образом: оценивалось количество трансплантатов, где количество устьев желчных протоков на портальной пластинке было равно 1, 2 и 3 соответственно. Так, при лапароскопическом изъятии было получено 54% трансплантатов с единственным протоковым устьем, 44% – с

двумя, и 2% – с тремя устьями желчных протоков. Что касается открытой операции, то в данной группе количество трансплантатов с одним устьем равнялось 44%, двумя – 45% и тремя – 11%. При этом, не выявлено достоверной разницы между количеством получаемых протоков в зависимости от выполнения открытой или лапароскопической резекции ($p = 0,55$).

В послеоперационном периоде у доноров оценивалось количество осложнений по классификации Clavien-Dindo, а также оценивался субъективный уровень испытываемых болевых ощущений, используя визуальную аналоговую шкалу, уровень трансаминаз (АЛТ и АСТ), а также время, проведенное в стационаре после оперативного вмешательства.

Так, по результатам полученных расчетов, количество осложнений по всем стадиям классификации Clavien-Dindo в обеих группах достоверно не отличалось (см. табл. 1). Однако наиболее важно было оценить осложнения в исследуемой группе. Так, у доноров, прооперированных лапароскопически, осложнений I степени по классификации Clavien-Dindo

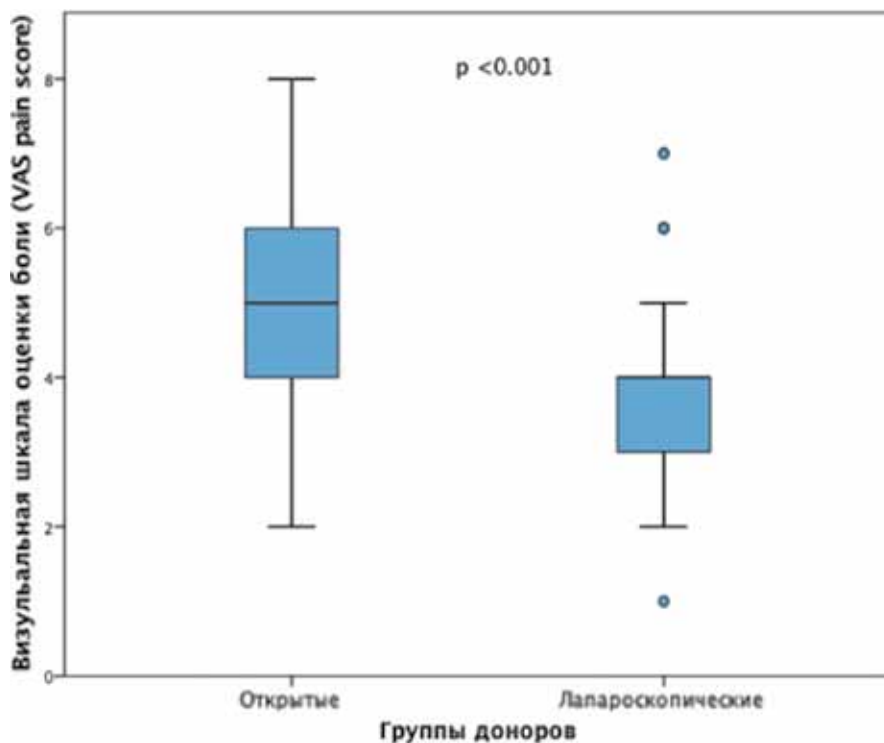


Рис. 4. Сравнение субъективных болевых ощущений у доноров после резекции ЛСС печени в группах открытого и лапароскопического изъятия. На графике показано сравнение на 1-е послеоперационные сутки

не наблюдалось. У одного пациента отмечалось скопление жидкости по данным УЗИ в области резекции печени (Clavien-Dindo grade II), которое самостоятельно разрешилось. У одного донора отмечалось желчеистечение, потребовавшее дренирования (Clavien-Dindo grade IIIa). И еще один донор наблюдался с абсцессом брюшной полости, потребовавший оперативного вмешательства на 21 сутки после операции (Clavien-Dindo grade IIIb).

Субъективные болевые ощущения после операции в группе лапароскопических доноров были достоверно меньше, по сравнению с пациентами, прооперированными открыто, причем как на 1-е, так и на 4-е послеоперационные сутки ($p < 0,001$), рис. 4, 5.

Также, в исследуемой группе отмечался несколько меньший синдром цитолиза после резекции. Уровень АЛТ/АСТ на первые сутки после вмешательства у доноров, подвергшихся открытой операции, составил $288 \pm$

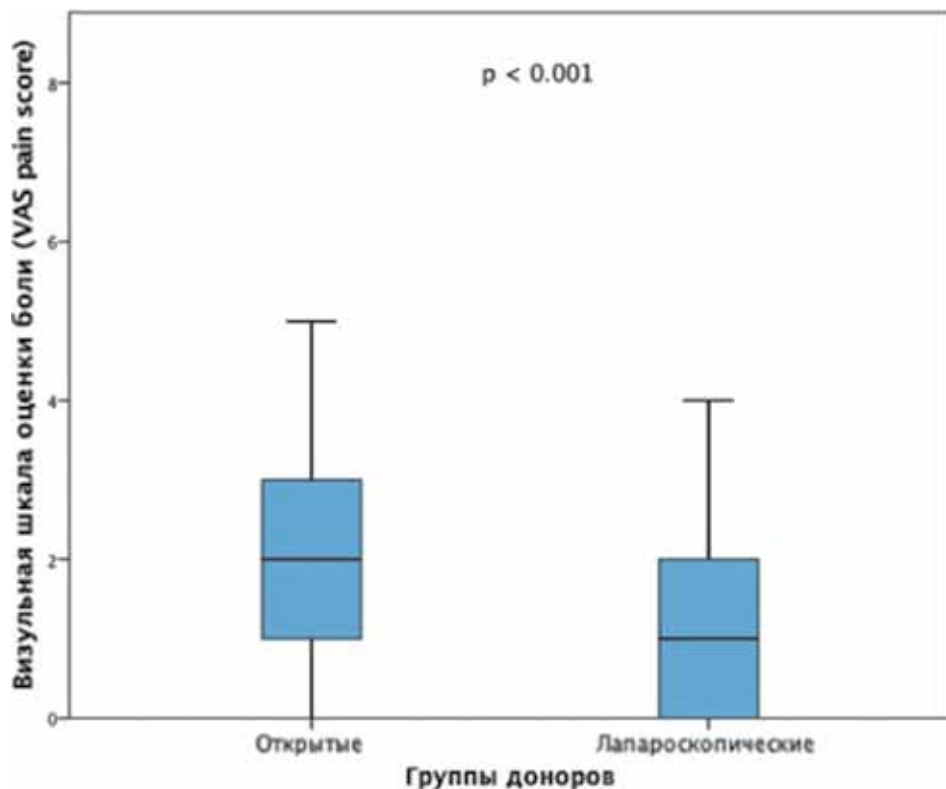


Рис. 5. Сравнение субъективных болевых ощущений у доноров после резекции ЛСС печени в группах открытого и лапароскопического изъятия. На графике показано сравнение на 4-е послеоперационные сутки

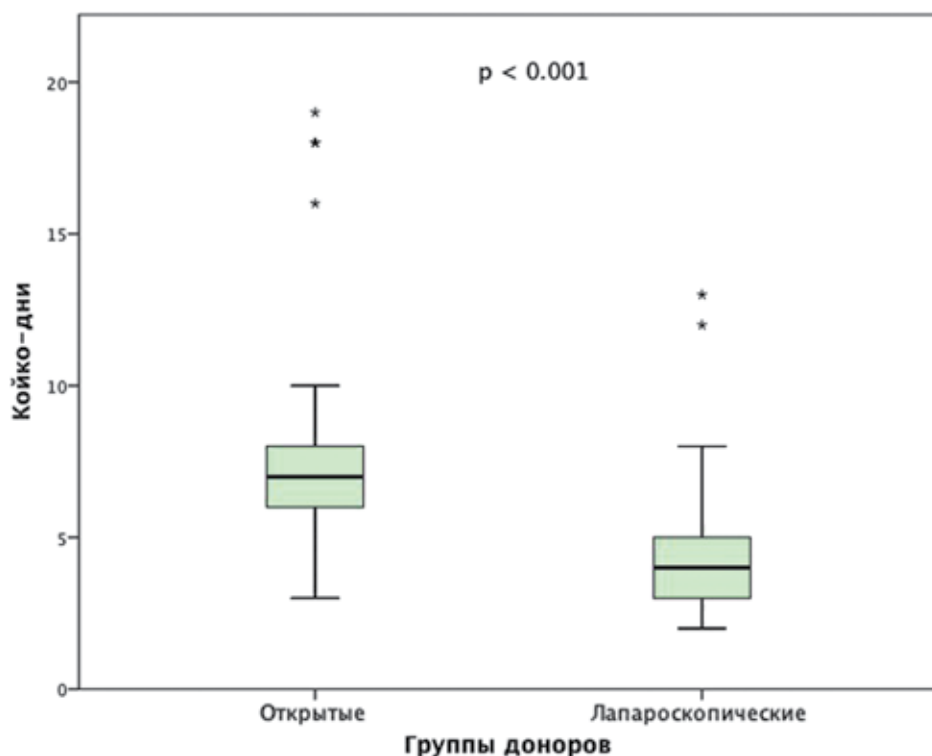


Рис. 6. Сравнение длительности нахождения в стационаре после оперативного вмешательства в исследуемой и контрольной группах

91,2/186 $\pm$ 59,1 Ед/л. В исследуемой группе эти показатели составляли 209 $\pm$ 123/175 $\pm$ 73,1 Ед/л. Эти же показатели на 3-и послеоперационные сутки составили 142,9 $\pm$ 59/101,9 $\pm$ 44,2 и 114,9 $\pm$ 66,3/91 $\pm$ 45,3 в обеих группах соответственно.

Период нахождения в стационаре после резекции у доноров, оперированных открыто, составил 7,5 $\pm$ 2,7 дней, что является достоверно больше, чем в группе лапароскопического изъятия, где этот период не превышал 4,5 $\pm$ 1,6 дней ($p < 0,001$), рис. 6.

Характеристика клинических результатов у реципиентов

Важной задачей при проведении изъятия левого латерального сектора печени является получение трансплантата высокого качества. Поэтому, для оценки результатов трансплантаций печени в двух группах, было проведено сравнение периоперационных данных реципиентов, которые получали трансплантат как от доноров, прооперированных открыто, так и от тех, кому резекция выполнялась при помощи лапароскопической

методики. Характеристики клинических результатов реципиентов представлены в табл. 2.

Так, не было достоверной разницы в возрасте, весе и исходной тяжести состояния детей (по данным PELD) в обеих группах ($p > 0,1$). Также, достоверных отличий не наблюдалось и по распределению показаний к трансплантации печени между группами ($p > 0,689$).

В послеоперационном периоде у реципиентов оценивались следующие осложнения: первичная дисфункция трансплантата, развитие тромбозов печеночной артерии и воротной вены, нарушение оттока по печеночным венам, а также билиарные осложнения: желчеистечения, стриктуры и комбинированные билиарные осложнения (желчный свищ + стриктура). Также была рассчитана общая смертность для групп пациентов.

В обеих группах не наблюдалось первичной дисфункции трансплантата. В исследуемых группах количество сосудистых осложнений достоверно не отличалось ($p > 0,1$). В исследуемой группе количество тромбозов печеночной артерии составило 8%, тромбозов воротной вены – 1% в то время, как в группе сравнения эти осложнения встречались в 3 и 2% процентах случаев соответственно. Что касается билиарных осложнений, то в группе реципиентов, получивших трансплантат от доноров, прооперированных открыто, количество желчеистечений составляло 16%, стриктур – 1%, а комбинированных желчных осложнений – 1%. У пациентов, получивших трансплантат от лапароскопически прооперированных доноров, процент желчных осложнений составил 15, 2 и 2% соответственно. Результаты по количеству желчных осложнений также достоверно не отличались ($p > 0,5$), табл. 3.

Выживаемость реципиентов в обеих группах оценивалась при помощи процедуры Каплана–Майера (см. рис. 7). Так, общий период клинического наблюдения составил 52 недели. 1-летняя выживаемость в группе реципиентов, получивших трансплантат от доноров, оперированных открыто, составила 91,4%, 3-летняя выживаемость – 90,2%. В группе реципиентов, где трансплантат получен от лапароскопически оперированного донора, 1-летняя выживаемость составила 92,9%, 3-летняя выживаемость составила также 92,9%. Таким образом, в группе детей, получивших трансплантата от доноров, оперированных лапароскопически, выживаемость реципиентов достоверно не отличалась от группы лапароскопического изъятия левого латерального сектора ($p = 0,55$).

Изучение кривой обучения

Описание кривой обучения имеет решающее значение для развития лапароскопического подхода, поскольку от скорости выполнения оперативного пособия напрямую зависит время реабилитации пациента. Также кривая обучения помогает оценить потенциал внедрения методики в

Таблица 2

Сравнение характеристик реципиентов левого латерального сектора печени, а также сравнение групп по показаниям к трансплантации печени

Данные		До псевдорандомизации		После псевдорандомизации			
		Трансплантат от лапароскопического донора (n = 100)	Трансплантат от открытого донора (n = 140)	р знач.	Трансплантат от лапароскопического донора (n = 100)	Трансплантат от открытого донора (n = 100)	р знач.
Возраст, месяцев		13,1 ± 16,7	11 ± 8	0,218	13,1 ± 16,7	11,7 ± 10,7	0,483
Пол	М	46 (46%)	64 (45,7%)	0,965	46 (46%)	46 (46%)	1
	Ж	54 (54%)	76 (54,3%)		54 (54%)	54 (54%)	
Вес, кг		8,7 ± 5,9	7,7 ± 2,4	0,065	8,7 ± 5,9	7,8 ± 2,4	0,124
Показания к трансплантации, n:							
Билиарная атрезия		49 (49%)	76 (54,3%)	0,467	49 (49%)	52	0,689
Билиарная гипоплазия		17 (17%)	16 (11,4%)		17 (17%)	13	
Болезнь Кароли		6 (6%)	17 (21,1%)		6 (6%)	11	
Болезнь Байлера		11 (11%)	16 (11,4%)		11 (11%)	12	
Болезнь Аладжиля		4 (4%)	7 (5%)		4 (4%)	5	
Криптогенный цирроз		7 (7%)	3 (2,1%)		7 (7%)	3	
Гепатобластома		1 (1%)	1 (0,7%)		1 (1%)	1	
Синдром Криглера–Найяра		0	1 (0,7%)		0	0	
Дисфункция трансплантата печени		0	1 (0,7%)		0	0	
Мальформация Абернети		0	1 (0,7%)		0	1	
Синдром Волкотта–Раллисона		0	1 (0,7%)		0	1	
Гликогенозы		2 (2%)	0		2 (2%)	0	
Первичная гипероксалурия		1 (1%)	0		1 (1%)	0	
Аутоиммунный гепатит		1 (1%)	0		1 (1%)	0	
Тирозинемия 1 типа		1 (1%)	0		1 (1%)	0	

Таблица 3

Сравнение периоперационных характеристик реципиентов левого латерального сектора печени, а также сравнение характеристик клинических результатов у реципиентов левого латерального сектора печени

Данные	До псевдорандомизации			После псевдорандомизации		
	Трансплантат от лапароскопического донора (n = 100)	Трансплантат от открытого донора (n = 140)	p знач.	Трансплантат от лапароскопического донора (n = 100)	Трансплантат от открытого донора (n = 100)	p знач.
PELD, баллы	19,5 ± 10,2	20,54 ± 8,8	0,4	19,5 ± 10,2	20,25 ± 9,2	0,587
GRWR, %	3,4 ± 1,1	3,9 ± 1	<0,001	3,4 ± 1,1	3,8 ± 1	0,002
Первичная дисфункция трансплантата	0	0	1	0	0	1
Послеоперационный тромбоз артерии трансплантата	8 (8%)	6 (4,3%)	0,227	8 (8%)	3 (3%)	0,122
Послеоперационный тромбоз воротной вены трансплантата	1 (1%)	1 (1,4%)	0,769	1 (1%)	1 (1%)	0,562
Послеоперационное нарушение оттока по печеночной вене	0	0	1	0	0	1
Желчеистечение	15 (15%)	24 (17,1%)	0,658	15 (15%)	16 (16%)	0,845
Протоковая стриктура	2 (2%)	2 (1,4%)	0,734	2 (2%)	1 (1%)	0,562
Желчеистечение + стриктура	2 (2%)	1 (0,7%)	0,378	2 (2%)	1 (1%)	0,562

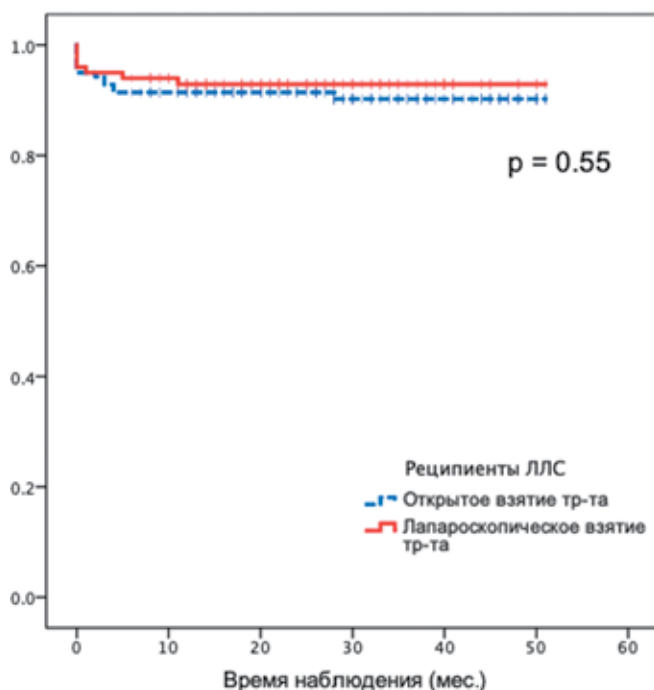


Рис. 7. Динамика выживаемости реципиентов в обеих группах

другие клинические центры. Для изучения кривой обучения проводился анализ времени, потраченного на выполнение каждой лапароскопической резекции левого латерального сектора в зависимости от накопленного опыта, используя метод линейной регрессии.

За исследуемый период время проведения операции по лапароскопическому изъятию левого латерального сектора достоверно снижалось ($p < 0,001$). Линия регрессии показывает уменьшение продолжительности выполнения операции с накоплением опыта, что продемонстрировано на графике (см. рис. 8). Достигнута достоверная корреляция между датой операции и временем операции $p < 0,001$ (корреляция Пирсона).

Также получена зависимость времени выполнения операции от массы получаемого трансплантата. Получены данные о снижении объема кровопотери с накоплением хирургического опыта при выполнении лапароскопической левой латеральной секторэктомии печени у родственного донора, линия регрессии демонстрирует уменьшение кровопотери с накоплением опыта.

Выводы

1. Длительность выполнения операции, объем кровопотери, а также время пребывания в стационаре у доноров после лапароскопиче-

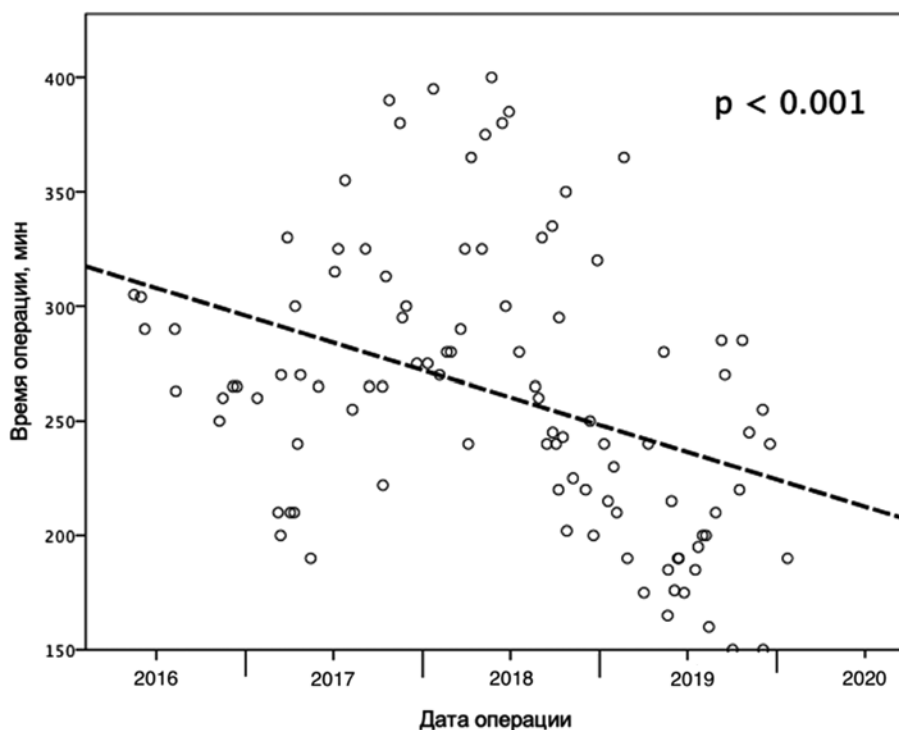


Рис. 8. Динамика времени выполнения лапароскопической резекции левого латерального сектора у прижизненного донора в зависимости от накопления опыта

ского изъятия левого латерального сектора печени достоверно ниже, чем после открытого изъятия ($p < 0,001$), а количество и тяжесть осложнений достоверно не отличались. Также, у доноров из группы лапароскопического изъятия субъективные болевые ощущения после операции были достоверно ниже ($p < 0,001$). Пострезекционный цитолитический синдром у данной группы также был менее выражен.

2. Критериями селекции прижизненных доноров для лапароскопического изъятия левого латерального сектора печени на этапе внедрения методики в практику:
 - отбор пациентов со стандартной сосудистой анатомией печени (отсутствие абберантных артериальных ветвей, добавочных печеночных вен);
 - отбор доноров с небольшим объемом паренхимы левого латерального сектора печени (до 250 см³) по данным МСКТ;
 - переднезадний размер предполагаемого трансплантата не более 7 см по данным МСКТ;

- отсутствие у донора в анамнезе оперативных вмешательств на брюшной полости.

По мере накопления должного хирургического опыта потребность в дополнительной селекции доноров практически полностью отпадает.

3. Хирургическая техника лапароскопической резекции левого латерального сектора печени у прижизненного донора структурирована на несколько этапов (постановка троакаров, диссекция элементов печеночно-двенадцатиперстной связки, формирование плоскости резекции на основании анатомических ориентиров, а также разделение паренхимы и изъятие трансплантата), соблюдение которых позволяет получить трансплантаты высокого качества и минимизировать хирургические риски для донора.
4. Результаты трансплантаций левого латерального сектора печени, полученного открытым и лапароскопическим путем, у детей достоверно не отличались по количеству и характеру осложнений в послеоперационном периоде ($p > 1,2$), при этом 1-летняя и 3-летняя выживаемость в обеих группах реципиентов также достоверно не различалась ($p = 0,55$), что свидетельствует об одинаково высоком качестве получаемых трансплантатов.
5. С накоплением должного хирургического опыта, время выполнения лапароскопической левой латеральной секторэктомии печени и интраперационная кровопотеря прогрессивно снижаются. Выявлена статистическая корреляция между продолжительностью операции и количеством наблюдений ($p < 0,001$; корреляция Пирсона).

Практические рекомендации

1. При старте программы лапароскопического изъятия фрагментов печени рекомендуется более жесткая селекция прижизненных доноров, которая включает в себя отбор пациентов со стандартной сосудистой анатомией печени (отсутствие абберантных артериальных ветвей, добавочных печеночных вен), с небольшим объемом паренхимы (до 250 см³) и переднезаднего размера предполагаемого трансплантата (до 7 см), а также отсутствие в анамнезе оперативных вмешательств на брюшной полости. По мере накопления опыта, потребность в дополнительной селекции доноров практически полностью отпадает.
2. Циркулярная ротация левого латерального сектора против часовой стрелки позволяет более выгодно мобилизовать сосудистые элементы печеночно-двенадцатиперстной и печеночно-желудочной связок.
3. Рассечение паренхимы между аранцевым протоком и 1 сегментом печени позволяет более безопасно выделить левый желчный проток

- во время основного этапа операции – трансекции паренхимы, а также обеспечивает дополнительную безопасность во время резекции.
4. Крайне не рекомендуется проводить предварительную циркулярную мобилизацию левой печеночной вены до разделения паренхимы печени, поскольку это с большой долей вероятности может привести к массивному кровотечению, которое будет весьма трудно остановить.
 5. С целью обеспечения максимальной безопасности при разделении паренхимы печени рекомендуется использовать ультразвуковой кавитационный деструктор со встроенным аспиратором, что позволяет безопасно выполнять диссекцию паренхимы без риска повреждения крупных сосудистых структур.
 6. Тракция за круглую связку печени через эпигастральный троакар позволяет ориентировать плоскость разделения таким образом, чтобы обеспечить оптимальную визуализацию диссекцию паренхимы по принципу «открытой книги».
 7. Разделение паренхимы печени в условиях низкого центрального венозного давления (менее 3–4 мм водн. ст.) позволяет минимизировать кровопотерю и обеспечивает оптимальные условия для работы ультразвукового деструктора.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Монахов А.Р. Коррекция внепеченочной портальной гипертензии у ребенка в отдаленные сроки после трансплантации печени / Монахов А.Р., Миронков Б.Л., Джанбеков Т.А., **Семаш К.О.**, Хизроев Х.М., Готье С.В. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – т. 19 (1). – С. 47–51.
2. Готье С.В. Роль эндоваскулярных и эндобилиарных методов в лечении осложнений после трансплантации печени: обзор литературы / Готье С.В., Восканов М.А., Монахов А.Р., **Сёмаш К.О.** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020 – Т. XXII – № 4. – С. 36–42.
3. Готье С.В. Лапароскопическое изъятие фрагментов печени прижизненного донора для трансплантации детям / Готье С.В., Галлямов Э.А., Монахов А.Р., Хизроев Х.М., Загайнов Е.В., **Сёмаш К.О.** // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – т. XIX. – № 5. – С. 90–91.
4. Готье С.В. Лапароскопический забор фрагментов печени от живого родственного донора для трансплантации детям / Готье С.В., Монахов А.Р., Галлямов Э.А., Загайнов Е.В., Цирульникова О.М., **Сёмаш К.О.**, Джанбеков Т.А., Хизроев Х.М., Олешкевич Д.О., Чеклецова Е.В. // Анналы хирургической гепатологии. – 2018. – т. 23 (1). С. 13–18.
5. Gautier S.V. Laparoscopic left lateral section procurement in living liver donors: A single center propensity score matched study / Gautier S.V., Monakhov A.R., Gallyamov E.A., Tsiurulnikova O.M., Zagaynov E.V., Dzhambekov T.A., **Se-**

- mash K.O.**, Khizroev K.M., Oleshkevich D.O., Chekletsova E.V. // Clinical Transplantation. – 2018. – 32: e13374.
6. Монахов А.Р. Лечение стриктур билиодигестивного анастомоза после трансплантации левого латерального сектора печени / Монахов А.Р., Миронков 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. 22 – № 3. – С. 18–25.
7. Monakhov A.R. Interventional Radiology in Complication Management after Pediatric Liver Transplantation / Monakhov A.R., Mironkov B.L., Tsirolnikova O.M., Voskanov M.A., Dzhanbekov T.A., **Semash K.O.**, Meshcheryakov S.V., Latypov R.A., Pets V.A., Khizroev K.M., Gautier S.V. // Transplantation. – 2018. – Volume 102. – Issue – p S150.
8. Gautier S.V. Surgical Aspects of Split Liver Transplantation / Gautier S.V., Monakhov A.R., Kornilov M.N., Tsirolnikova O.M., Dzhanbekov T.A., Latypov R.A., Khizroev K.M., Kruglov D.N., Pashkova I.E., Voskanov M.A., **Semash K.O.**, Silina O.V. // Transplantation. – 2018. – Vol. 102. – Issue – p S911.
9. Gautier S.V. Simultaneous laparoscopic left lateral sectionectomy and nephrectomy in the same living donor: The first case report / Gautier S.V., Monakhov A.R., Miloserdov I.A., Arzumanov S.V., Tsirolnikova O.M., **Semash K.O.**, Dzhanbekov T.A. // American Journal of Transplantation. – 2019. – V. 19. – P. 1847–1851.
10. Monakhov A.R. Laparoscopic living donor right hepatectomy (LLDH) fully exposing the right hepatic vein (conventional approach) / Monakhov A.R., **Semash K.O.**, Khizroev K.M., Voskanov M.A., Gautier S.V. // Epublication. – WebSurg.com. – 2019. – 19 (10).
11. Monakhov A.R. Laparoscopic hepatectomy in living liver donors for transplantation in children: From implementation to routine use / Monakhov A.R., Gautier S.V., Tsirolnikova O.M., **Semash K.O.**, Khizroev K.M., Gallamov E.A., Dzhanbekov T.A., Voskanov M.A., Meshcheryakov S.V. // Transplantation. – 2019. – Volume 103. – Issue 11S. – P. S82.
12. Monakhov A.R. Laparoscopic living donor left hepatectomy (including middle hepatic vein) / Monakhov A.R., **Semash K.O.**, Khizroev K.M., Voskanov M.A., Gautier S.V. // Epublication. – WebSurg.com. – 2020. – 20 (6).
13. Готье С.В., Монахов А.Р., Цирульников О.М., Латыпов Р.А., Джанбеков Т.А., Мещеряков С.В., **Семаш К.О.**, Зубенко С.И., Хизроев Х.М., Чеклецова Е.В. Сплит-трансплантация печени: опыт одного центра. Альманах клинической медицины. – 2020; 48 – С. 162–170.
14. Monakhov A. Laparoscopic left lateral sectionectomy in living liver donors: from the first experience to routine usage / Monakhov A.R., **Semash K.O.**, Tsirolnikova O.M., Djanbekov T.A., Khizroev K.M., Kurtak N.D., Gautier S.V. // Transplantation – 2020. – Т. 104 – № S3 – С. S241–S241.
15. Gautier S.V. ABO-incompatible pediatric liver transplantation: experience of 122 procedures at a single center / Gautier S.V., Tsirolnikova O.M., Pashkova I., Monakhov A.R., Prokuratova S.U., **Semash K.O.** // Transplantation – 2020. – Т. 104 – № S3 – С. S550–S550.

Список используемых сокращений

АЛТ	— аланинаминотрансфераза
АСТ	— аспартатаминотрансфераза
АЧТВ	— активированное частичное тромбопластиновое время
ВБД	— внутрибрюшное давление
ВАШ	— визуальная аналоговая шкала
ГГТ	— гамма-глутамилтранспептидаза
ЕД	— единица
ИМТ	— индекс массы тела
КГ	— килограмм
КТ	— компьютерная томография
Л	— литр
ЛД	— левая доля
ЛВВ	— левая воротная вена
ЛЛС	— левосторонний латеральный сектор
ЛПА	— левая печеночная артерия
ЛПВ	— левая печеночная вена
МГ	— миллиграмм
МЛ	— миллилитр
ММ	— миллиметр
МЕ	— международная единица
ВАШ	— визуальная аналоговая шкала
ГГТ	— гамма-глутамилтранспептидаза
ЕД	— единица
CUSA (Cavitation Ultrasound Surgical Aspirator)	— кавитационный ультразвуковой хирургический аспиратор
GRWR (graft-to-recipient weight ratio)	— отношение массы трансплантата к массе тела реципиента (выражается в процентах)
PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease)	— модель для оценки терминальной стадии заболевания печени у детей
PSM (propensity score matching)	— псевдорандомизация
МНО	— международное нормализованное отношение
МСКТ	— мультиспиральная компьютерная томография

МИКРОРНК ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕГКИХ: АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ И ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Шарапченко С.О., 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

Трансплантация легких (ТЛ) в настоящее время является радикальным и единственно возможным вариантом лечения хронических заболеваний легких в терминальной стадии [Kreisel D. et al., 2011; Cooper J.D. et al., 2016].

Согласно регистру Международного общества трансплантации сердца и легких (ISHLT), ежегодно в мире выполняется около 4000 пересадок легких и около 40 – сердечно-легочного комплекса [Yusen R. et al., 2019]. В России данное направление получило активное развитие относительно недавно [Готье С.В. и соавт., 2014]. В 2019 году в РФ было выполнено 25 трансплантаций легких, 17 (68%) из которых – 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).

К настоящему времени достигнуты значимые успехи в увеличении продолжительности и улучшении качества жизни реципиентов солидных органов [Готье С.В. и соавт., 2016; Шевченко А.О. и соавт., 2018], однако по данным Международного общества трансплантации сердца и легких, пятилетняя выживаемость реципиентов легких составляет около 53%. Главная проблема на пути к улучшению отдаленных результатов трансплантации легких – развитие посттрансплантационных осложнений, ведущих к дисфункции трансплантата [Gharib S.A. et al., 2015; Verleden S.E. et al., 2016; Weigt S.S. et al., 2013]. В числе факторов, определяющих отдаленные клинические результаты трансплантации легких, выступают особенности иммунных взаимоотношений трансплантата и организма

реципиента [Todd J.L. et al., 2011; Готье С.В. и соавт., 2015; Diamond J.M. et al., 2016; Potestio C. et al., 2017].

Выполнение трансбронхиальной биопсии (ТББ) с последующим гистологическим исследованием биопсийного материала позволяет верифицировать патологию трансплантата, однако сопряжено с рисками и ограничениями, характерными для инвазивных вмешательств. В связи с этим разрабатываются технологии ранней диагностики осложнений у реципиентов солидных органов, что стимулирует интерес к изучению биомаркеров – растворимых молекул различной природы, изменение концентрации которых в плазме (сыворотке) крови или других биологических жидкостях отражает течение патологических процессов [Bartel D.P., 2009; Greenland J.R. et al., 2014; Hamilton B.C.S. et al., 2017; Yang J.Y.C., 2017]. В последние годы активно изучаются микроРНК, представляющие собой семейство небольших некодирующих РНК, которые действуют как регуляторные элементы посттранскрипционных процессов. Считается, что микроРНК регулируют экспрессию более чем 30% генов, кодирующих структуру белков, и играют ключевую роль в реакциях иммунного ответа, развитии сердечно-сосудистых и других заболеваний, влияют на функции фибробластов, дендритных клеток, Т-лимфоцитов [Shan J. et al., 2011; Amrouche L. et al., 2014; Великий Д.А. и соавт., 2018].

На сегодняшний день имеются данные о связи изменения уровня экспрессии отдельных видов микроРНК в крови реципиентов солидных органов с развитием посттрансплантационных осложнений, однако роль микроРНК при трансплантации легких мало изучена, и представлены лишь единичные исследования, посвященные изучению сигнальных молекул у реципиентов легких [Sarma N.J. et al., 2012; Zhang W. et al., 2013].

Дальнейшие исследования роли как отдельных микроРНК, так и мультимаркерных тестов на их основе, должны позволить получить достоверные критерии для ранней диагностики риска осложнений после трансплантации легких и формированию принципиально новых подходов к терапии.

Цель исследования

Определить уровень экспрессии микроРНК, потенциально значимых при развитии посттрансплантационных осложнений у реципиентов легких, и оценить диагностическую значимость этих показателей.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать уровень экспрессии микроРНК (miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424) в плазме крови пациентов, ожидаю-

- щих трансплантацию легких, и определить связь этих показателей с клиническими и лабораторными данными.
2. Оценить изменения величины экспрессии miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 у реципиентов легких в ранние и отдаленные сроки после трансплантации.
 3. Определить связь величины экспрессии miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 с клиническими и лабораторными показателями у реципиентов легких.
 4. Определить связь величины экспрессии микроРНК с параметрами функции внешнего дыхания у реципиентов легких.
 5. Провести сравнительный анализ величины экспрессии микроРНК у реципиентов с различным течением посттрансплантационного периода.
 6. Определить диагностически значимое пороговое значение экспрессии miR-339 при развитии обструктивных процессов бронхиальных путей легочного трансплантата.
 7. У реципиентов легких определить диагностическую эффективность комплексного теста, включающего определение уровня экспрессии miR-339 и концентрации галектина-3 в плазме крови.

Научная новизна

Новыми являются данные о величине и динамике экспрессии микроРНК (miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424) в плазме крови пациентов до и в различные сроки после трансплантации легких.

Впервые выявлена связь уровня экспрессии miR-142 в плазме крови с показателями функции внешнего дыхания у пациентов до и после трансплантации легких.

Новыми являются данные о связи уровня экспрессии отдельных микроРНК в плазме крови реципиентов легких с величиной лабораторных параметров (содержанием лейкоцитов, тромбоцитов, креатинина, билирубина и др.).

Впервые установлена связь уровня экспрессии miR-27 и miR-101 с развитием верифицированного острого отторжения легочного трансплантата.

Впервые выявлена и охарактеризована связь величины экспрессии miR-339 с риском развития обструктивных процессов в бронхиальных путях у реципиентов трансплантированных легких.

Новым является комплексный тест, включающий miR-339 и галектин-3, обладающий диагностической эффективностью при обструктивных процессах в бронхиальных путях легочного трансплантата.

Теоретическая и практическая значимость

Данные об изменении величины экспрессии miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 у реципиентов легких и связи этих показателей с клиническими (индекс массы тела, возраст, этиология дыхательной недостаточности), лабораторными (уровень лейкоцитов, тромбоцитов, креатинина, билирубина и др.) и функциональными параметрами (функция внешнего дыхания) указывают на участие этих молекул в регуляции гомеостаза у реципиентов легких, и могут быть использованы для разработки новых подходов к диагностике и лечению патологии легочного трансплантата.

Выявленная связь уровней экспрессии miR-142 в плазме крови реципиентов с клиническими и лабораторными показателями, а также наличием признаков обструктивных и рестриктивных изменений трансплантата может указывать на вовлеченность miR-142 в патогенез посттрансплантационных осложнений у реципиентов легких.

Измерение уровней экспрессии miR-27 и miR-101 может быть использовано в качестве скринингового лабораторного индикатора для выявления реципиентов легких с риском острого отторжения трансплантата.

Перспективы практического использования имеет выявленная диагностическая значимость miR-339 при развитии обструктивных процессов бронхов трансплантированных легких, а также повышение диагностических характеристик miR-339 в комбинации с измерением концентрации галектина-3.

Методология и методы исследования

В исследовании представлены результаты анализа уровня экспрессии пяти микроРНК (miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424) в плазме крови у пациентов с дыхательной недостаточностью в терминальной стадии у реципиентов донорских легких в ранние и отдаленные сроки после трансплантации. Охарактеризована связь уровня экспрессии микроРНК с результатами лабораторных и биохимических показателей крови до и после трансплантации легких; исследована зависимость величины уровней микроРНК, галектина-3 и sCD40L от наличия и характера посттрансплантационных осложнений: инфекционных (выявленных на основании микробиологических исследований образцов крови, мокроты и бронхоальвеолярного лаважа) и осложнений со стороны дыхательных путей (выявленных на основании результатов спирографии, компьютерной томографии, трансбронхиальной биопсии). Для определения уровней экспрессии микроРНК был применен метод полимеразной цепной реакции (ПЦР); концентрации галектина-3 и sCD40L измеряли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для анализа и обобщения резуль-

татов настоящего исследования применялись методы параметрической и непараметрической статистики, что обусловлено особенностями распределения значений исследуемых величин.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Величина экспрессии miR-27, miR-101 и miR-339 в плазме крови пациентов с хронической дыхательной недостаточностью выше, чем у здоровых лиц; уровень экспрессии miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 после трансплантации легких варьирует в широком диапазоне и не зависит от содержания иммуносупрессивных препаратов (такролимуса, эверолимуса) в крови реципиентов.
2. Уровень экспрессии miR-142 коррелирует со снижением показателей функции внешнего дыхания у пациентов с дыхательной недостаточностью и у реципиентов легких.
3. Экспрессия miR-27 и miR-101 у реципиентов с верифицированным острым отторжением легочного трансплантата выше, чем у реципиентов без признаков посттрансплантационных осложнений.
4. Измерение уровня экспрессии miR-339 обладает диагностической эффективностью в отношении развития обструктивных процессов в бронхиальных путях у реципиентов легких; совместная оценка величины экспрессии miR-339 и концентрации галектина-3 повышает диагностическую эффективность теста.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (125 образцов плазмы крови, полученные от 69 пациентов, обследованных до и после трансплантации легких) с использованием современных и стандартизированных методов исследования и статистической обработки. Работа выполнена в рамках государственных заданий Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок по темам: «Разработка биотехнологических, биомедицинских, клинических подходов к повышению эффективности трансплантации сердца и легких» (2015–2017 гг.), «Разработка путей повышения эффективности трансплантации легких как радикального метода лечения терминальных стадий хронических респираторных заболеваний у взрослых и детей» (2018–2020 гг.); гранта Президента Российской Федерации (2020–2021 гг.) для государственной поддержки ведущих научных школ по теме: «Молекулярно-генетические маркеры структурного и функционального ремоделирования трансплантата сердца, легкого и разработка персонализированных подходов к лечению сердечной, легочной недостаточности у реципиентов» НИШ-2598.2020.7.

Апробация работы состоялась 6 июля 2020 г. 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, 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 IV Российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019 г.), а также на X Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (Москва, 2020 г.).

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в хирургическом отделении № 3, в отделе регуляторных механизмов в трансплантологии 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).

Материалы и методы исследования

В исследование включены 69 пациентов исходно страдавших хронической дыхательной недостаточности различной этиологии, в их числе 57 реципиентов в возрасте от 10 до 74 лет (в среднем 35 ± 15), которым в период с 2014-го по 2019 г. выполнена трансплантация донорских легких в ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России. Среди них шестеро детей (9%) – четыре мальчика 10, 12, 13 и 17 лет и девочки 13 и 14 лет; а также 51 взрослый реципиент от 18 до 74 (37 ± 14) лет, в том числе 30 (62,5%) мужчин.

Плановое обследование пациентов проводилось по программе потенциального реципиента легких в хирургическом отделении № 3 ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в соответствии с клиническими рекомендациями Российского трансплантологического общества. Использованы данные инструментальных и лабораторных исследований, проводившихся в специализированных подразделениях ФГБУ «НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

К лабораторным методам диагностики относились общий и биохимический анализы крови, а также вирусологическое и бактериологическое исследования.

В числе инструментальных методов диагностики были: компьютерная томография (КТ) и рентгенография органов грудной клетки, бронхоскопия, трансбронхиальная биопсия, оценка функции внешнего дыхания. Посредством спирометрии осуществлялось измерение объемов форсированного выдоха в одну секунду ОФВ1 и форсированной жизненной емкости легких ФЖЕЛ, расчет индекса Тиффно ($\text{ОФВ1/ФЖЕЛ} \times 100\%$).

Верификация острого клеточного отторжения производилась по результатам трансбронхиальной биопсии и на основании клинической картины острой дыхательной недостаточности с наличием диффузного интерстициального уплотнения в легких по данным КТ и рентгенологического исследования.

Для оценки развития инфекционных процессов производилось бактериологическое обследование посевов крови, мокроты, бронхоальвеолярного лаважа.

Все реципиенты получали индукцию базиликсимабом и иммуносупрессивную терапию такролимусом, препаратами микофеноловой кислоты и метилпреднизолоном, при необходимости назначали зверолимус.

В качестве материала для исследования использованы образцы периферической крови пациентов, которые собирали в утреннее время, с 8 до 10 часов утра, в одноразовые пробирки с антикоагулянтом этилендиаминуксусной кислотой (ЭДТА), от 1 до 4 (в среднем 1,22) образцов от каждого пациента.

Уровень экспрессии панели из пяти микроРНК (miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424) измеряли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью наборов реагентов SerumPlasma (Qiagen, США); концентрацию галектина-3 и растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) измеряли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов Human Galectin-3 Platinum ELISA и Human CD40L Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Вена, Австрия).

Статистический анализ полученных результатов был проведен при помощи программного обеспечения и стандартных методов статистической обработки пакета прикладных программ «Statistica» v.13.0, StatSoftInc. (США). Методы непараметрической статистики использованы: для

сравнения независимых переменных использован (U-критерий Манна-Уитни), для оценки связи качественных и количественных порядковых признаков (расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена). Для непараметрических переменных данные представлены медианой (М) и интерквартильным размахом [25–75%], а для параметрических – верхней и нижней границами 95%-ого доверительного интервала (95% ДИ). Критический уровень значимости для всех критериев и тестов принимался равным 5%, т. е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Посредством ROC-анализа осуществлялся выбор теста, обладающего наилучшей диагностической силой.

К каждому из исследуемых биомаркеров, проявивших значимость в отношении тех или иных осложнений, построена соответствующая ROC-кривая. Оптимальный порог отсечения в данной работе выявлен посредством определения баланса между чувствительностью и специфичностью (максимальные значения). Оценивались диагностические характеристики, включающие расчет относительного риска развития осложнений, диагностической чувствительности (Se), специфичности (Sp) и эффективности (De) тестов.

Результаты исследования

Анализ уровня экспрессии микроРНК у потенциальных реципиентов легких

Исследование уровней экспрессии микроРНК проводили в образцах плазмы крови, взятой у 29 пациентов, страдавших хронической дыхательной недостаточностью в терминальной стадии, ожидающих трансплантацию легких. Среди них 17 (58,6%) пациентов мужского пола и 12 (41,4%) – женского. Сравнительный анализ уровней экспрессии miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 не выявил значимых различий между мужчинами и женщинами, ожидающими трансплантацию ($p = 0,37$, $p = 0,85$, $p = 0,98$, $p = 0,27$ и $p = 0,34$ соответственно). Группу сравнения составили 14 здоровых лиц.

Среди обследованных до трансплантации основную долю составили пациенты, страдающие муковисцидозом ($n = 11$; 37,9%), хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и эмфиземой легких ($n = 6$; 20,7%), легочной артериальной гипертензией (ЛАГ), в том числе синдромом Эйзенменгера ($n = 6$; 20,7%); также в исследование вошли пациенты, страдающие легочным фиброзом различной этиологии ($n = 4$; 13,8%) и лимфангиолейомиоматозом ($n = 2$; 6,9%) (рис. 1).

Уровень экспрессии трех из пяти микроРНК (miR-27, miR-101 и miR-339) в группе потенциальных реципиентов легких достоверно выше та-



Рис. 1. Распределение основных заболеваний, послуживших причиной развития хронической дыхательной недостаточности у потенциальных реципиентов легких

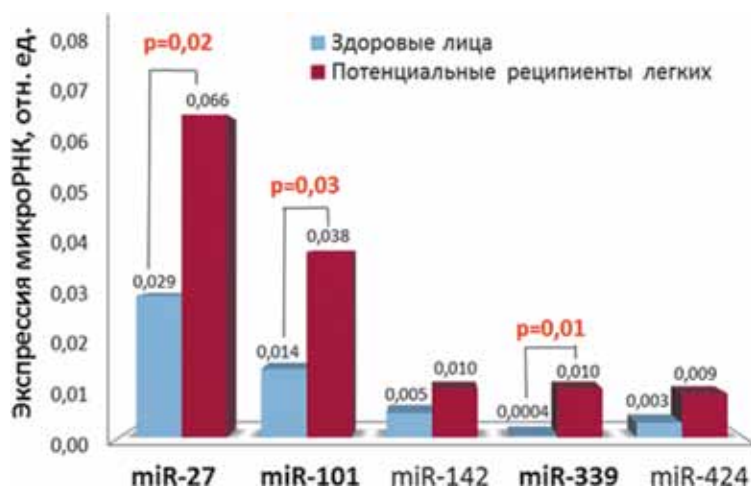


Рис. 2. Сравнительный анализ уровня экспрессии микроРНК miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 у потенциальных реципиентов и здоровых лиц

кового у здоровых лиц ($p = 0,02$, $p = 0,03$ и $p = 0,01$ соответственно); результаты сравнительного анализа представлены на рис. 2.

По сравнению со здоровыми лицами значительно более высокие показатели экспрессии miR-27 отмечались у пациентов с муковисцидозом ($p = 0,008$). Повышенные значения экспрессии miR-101 зафиксированы у пациентов с муковисцидозом ($p = 0,019$) и легочным фиброзом ($p = 0,003$). Уровень экспрессии miR-142, существенно отличающийся от такового у здоровых лиц, зафиксирован у пациентов с муковисцидозом ($p = 0,048$). Повышенный уровень miR-339 наблюдается у пациентов с ЛАГ ($p = 0,003$). Значения экспрессии miR-424 отличаются от показателей здоровой группы и выше их только у пациентов с ХОБЛ и эмфиземой легких ($p = 0,011$).

Проведен корреляционный анализ уровня экспрессии микроРНК у пациентов, ожидающих ТЛ, с основными клиническими и лабораторными данными, к которым относились: возраст, индекс массы тела (ИМТ), параметры функции внешнего дыхания, показатели общего и биохимического анализа крови.

Уровень экспрессии miR-339 коррелировал с возрастом потенциальных реципиентов легких ($p = 0,04$; $r = -0,46$), и связь носила обратный характер, тогда как экспрессия остальных четырех микроРНК от возраста не зависела.

При обследовании пациентов до ТЛ установлено, что уровень экспрессии miR-27 находится в обратной зависимости ($r = -0,441$; $p = 0,027$) от величины ИМТ пациентов, находящихся в листе ожидания (рис. 3); связи экспрессии miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 с ИМТ не обнаружено.

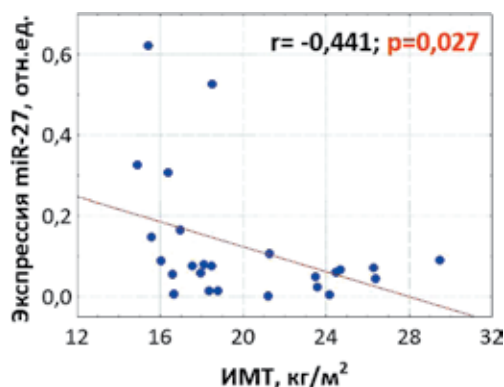


Рис. 3. Корреляция уровня экспрессии miR-27 с величиной индекса массы тела пациентов, ожидающих трансплантацию легких

Изучение показателей функциональных тестов внешнего дыхания позволило выявить обратную корреляцию экспрессии miR-142 со снижением процента ОФВ1 ($r = -0,663$; $p = 0,025$) и индекса Тиффно ($r = -0,605$; $p = 0,028$), что позволяет предположить вовлеченность miR-142 в развитие обструктивных процессов дыхательной системы.

Данные общеклинического анализа крови, включенные в исследование, составили следующие параметры: скорость оседания эритроцитов (СОЭ), содержанием гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов; относительным числом палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов, показателями гематокрита и тромбокрита. Анализ показал наличие прямой корреляции экспрессии miR-27 с содержанием лейкоцитов ($r = 0,498$; $p = 0,018$) и эозинофилов ($r = 0,560$; $p = 0,019$), miR-142 – с уровнем тромбоцитов ($r = 0,609$; $p = 0,004$), miR-339 – базофилов ($r = 0,511$; $p = 0,043$).

Были изучены возможные связи экспрессии исследуемых микроРНК с биохимическими показателями: активностью аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрацией креатинина, мочевины, альбумина, общего белка, общего билирубина, холестерина, глюкозы, С-реактивного белка (СРБ). Выявлена связь miR-27 с содержанием глюкозы ($r = 0,561$; $p = 0,019$) и креатинина ($r = -0,640$; $p = 0,002$); miR-142 – с концентрацией общего билирубина ($r = -0,531$; $p = 0,016$) и мочевины ($r = -0,631$; $p = 0,003$).

В качестве специальных лабораторных исследований проведена оценка связи экспрессии микроРНК с концентрацией биомаркеров, потенциально значимых при трансплантации солидных органов: биомаркера фиброза трансплантированных органов галектина-3 и растворимой формы костимулирующего фактора лимфоцитов лиганда CD40 (sCD40L). Результаты анализа демонстрируют прямую зависимость уровня экспрессии miR-27 ($r = 0,503$; $p = 0,047$) от концентрации галектина-3 (рис. 4); зависимость miR-27 от концентрации sCD40L установить не удалось ($r = 0,430$; $p = 0,075$).

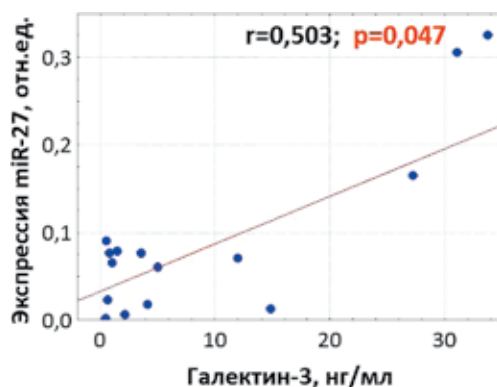


Рис. 4. Корреляция уровня экспрессии miR-27 с концентрацией галектина-3 в крови потенциальных реципиентов легких

Показатели экспрессии остальных четырех микроРНК miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 у пациентов на дотрансплантационном этапе не зависели от величины концентрации sCD40L ($p = 0,059$; $p = 0,308$; $p = 0,102$, $p = 0,161$ соответственно) и галектина-3 ($p = 0,087$; $p = 0,567$; $p = 0,168$, $p = 0,161$ соответственно).

Анализ уровня экспрессии микроРНК у реципиентов легких в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

Период наблюдения реципиентов после ТЛ включал: ранний период – первые полгода после ТЛ (от 4 до 239, 88 ± 81 суток), отдаленные сроки – спустя год и более после ТЛ (от 260 до 1808, 704 ± 443 суток). Максимальная длительность наблюдения реципиентов после ТЛ составила 1808 суток (медиана 294 [85; 545]).

Значимых различий среднего уровня miR-27, miR-101, miR-142 и miR-339 у пациентов до, в ранние и отдаленные после ТЛ не выявлено (рис. 5).

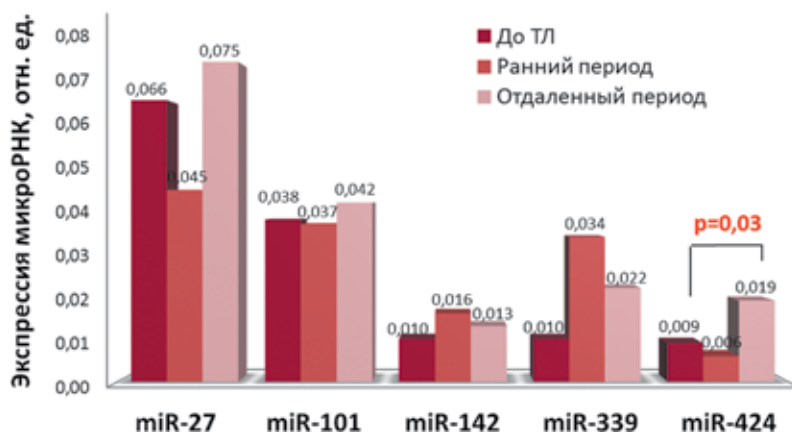


Рис. 5. Сравнительный анализ уровня экспрессии микроРНК у пациентов до ТЛ и реципиентов легких в раннем и отдаленном посттрансплантационном периоде

Уровень экспрессии miR-424 у реципиентов в отдаленные сроки достоверно отличался ($p = 0,03$) и был выше, чем у пациентов до ТЛ.

В отдаленные сроки после ТЛ величина экспрессии miR-27 выше у реципиентов с дефицитом массы тела, установлена обратная корреляция экспрессии miR-27 с величиной ИМТ ($r = -0,328$; $p = 0,047$, рис. 6); в раннем посттрансплантационном периоде эта связь не столь значима ($r = 0,228$; $p = 0,137$).

Так в раннем послеоперационном периоде уровень экспрессии всех исследуемых сигнальных молекул у реципиентов не был связан с изменением показателей спирометрии, однако в более поздний период выявлена зависимость между экспрессией miR-142 и величиной индекса Тиффно ($r = 0,612$; $p = 0,035$), отражающего рестриктивную патологию, обусловленную нарушениями альвеолярного звена бронхо-легочной системы (рис. 7).

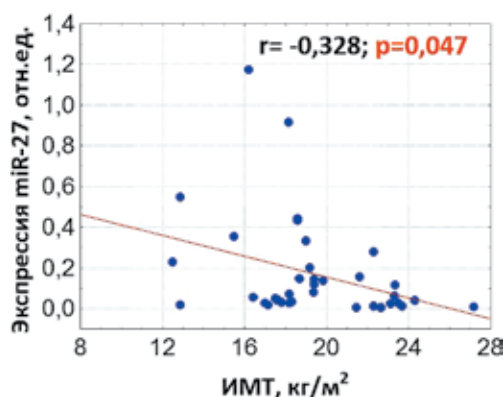


Рис. 6. Корреляция уровня экспрессии miR-27 с величиной индекса массы тела реципиентов в отдаленные сроки после ТЛ

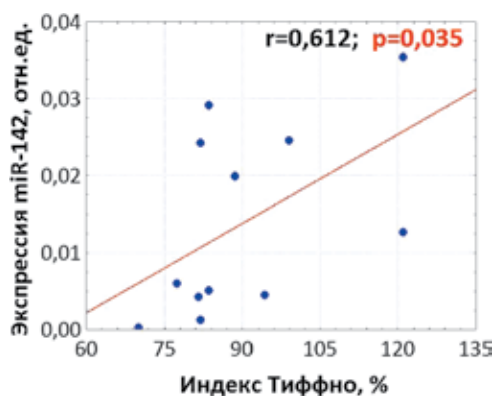


Рис. 7. Корреляция величины индекса Тиффно и уровня экспрессии miR-142 в крови реципиентов в отдаленном периоде после ТЛ

Значимая корреляция величины индекса Тиффно с экспрессией остальных микроРНК в отдаленные сроки отсутствовала.

Охарактеризована связь уровня экспрессии микроРНК с данными лабораторных исследований крови у реципиентов легких.

В раннем посттрансплантационном периоде установлена значимая обратная корреляция уровня miR-424 со скоростью оседания эритроцитов ($r = -0,593$; $p = 0,042$); miR-101 – с относительным количеством палочкоядерных нейтрофилов ($r = -0,561$; $p = 0,019$). Выявлена прямая связь уровня экспрессии miR-142 с показателями гемоглобина ($r = 0,550$; $p = 0,018$) и гематокрита ($r = 0,497$; $p = 0,049$). Связи содержания лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов с уровнями экспрессии микроРНК не выявлено.

Спустя год и более после ТЛ у реципиентов установлена прямая связь содержания лейкоцитов в крови и уровня экспрессии miR-27 ($r = 0,659$; $p = 0,0002$), miR-142 ($r = 0,517$; $p = 0,014$) и miR-424 ($r = 0,568$; $p = 0,001$), что отражено на рис. 8.

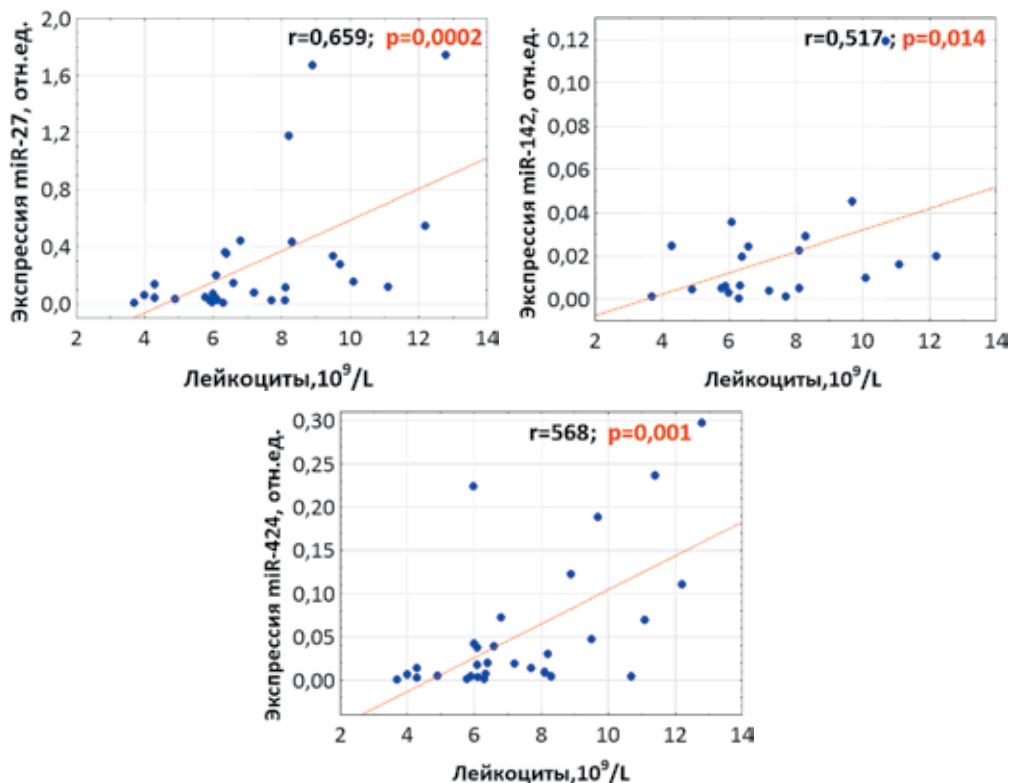


Рис. 8. Корреляция уровня экспрессии miR-27, miR-142 и miR-424 с содержанием лейкоцитов в крови реципиентов легких в отдаленном периоде

При анализе данных биохимического анализа крови у реципиентов в первые полгода после ТЛ удалось установить, что повышение уровня мочевины в крови было обратно связано с экспрессией miR-101 и miR-142, тогда как связь содержания холестерина с miR-27 носила прямой характер. Зависимость остальных параметров биохимического анализа от пяти исследуемых микроРНК не установлена. В отдаленные сроки после ТЛ у реципиентов легких удалось установить значимую обратную связь содержания маркеров цитолиза с экспрессией микроРНК: АЛТ с miR-27 ($r = -0,439$; $p = 0,011$) и АСТ с miR-27 ($r = -0,408$; $p = 0,018$) и miR-142 ($r = -0,408$; $p = 0,018$). При корреляционном анализе содержания общего

белка, альбумина, ЩФ и ГГТ значимой связи с экспрессией микроРНК не было выявлено.

Важно отметить, что вне зависимости от сроков перенесенной трансплантации, показатели экспрессии всех пяти микроРНК не зависели от величины содержания иммуносупрессивных препаратов в крови реципиентов.

Корреляционный анализ связи экспрессии изучаемых микроРНК с галектином-3 и sCD40L позволил установить связь концентрации sCD40L, роль которого опосредована костимуляцией Т-лимфоцитов, со значениями экспрессии miR-27 ($r = 0,52$; $p = 0,02$) и miR-142 ($r = 0,53$; $p = 0,02$) в плазме крови реципиентов в отдаленном посттрансплантационном периоде (рис. 9); характер установленной связи может указывать на возможное участие miR-27 и miR-142 регуляции функционирования легочного трансплантата.

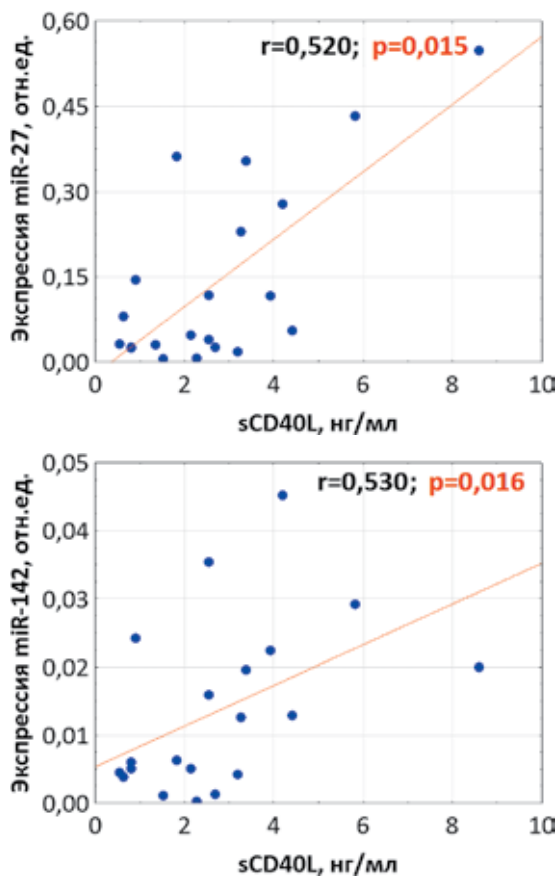


Рис. 9. Корреляция sCD40L с уровнями экспрессии miR-27 и miR-142 в крови реципиентов легких в отдаленном периоде

Выявленные корреляции величины экспрессии изучаемых микроРНК с рутинными лабораторными показателями крови отражают факт вовлеченности исследуемых сигнальных молекул в иммунологические механизмы повреждения трансплантированного органа и процессы воспаления в целом.

Анализ уровня экспрессии микроРНК у реципиентов трансплантированных легких с различным течением послеоперационного периода

У реципиентов, включенных в исследование, выделены следующие группы осложнений: инфекционные (инфекция кровотока и/или трахеобронхиального дерева, катетер-ассоциированный сепсис); иммуноопосредованные (острое и хроническое отторжение трансплантата); осложнения со стороны дыхательных путей (стеноз бронхов, бронхоэктазы, обструкция дыхательных путей).

Данные о характере и встречаемости указанных осложнений в различные сроки после ТЛ представлены в табл. 1.

Таблица 1

Количественная характеристика пациентов с различным течением посттрансплантационного периода

Особенности течения посттрансплантационного периода	Число реципиентов (образцов плазмы)
Инфекционные осложнения	16 (23)
Острое отторжение трансплантата	3 (5)
Обструктивные процессы неинфекционного генеза	12 (17)
Без осложнений	27 (29)

Был предпринят сравнительный анализ показателей экспрессии сигнальных молекул при развитии различных осложнений в посттрансплантационном периоде и при их отсутствии.

Результаты сравнения группы реципиентов с развитием инфекционных процессов и без осложнений показал, что величина экспрессии всех пяти исследуемых микроРНК miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 сравниваемых группах значимо не различалась ($p = 0,386$, $p = 0,240$, $p = 0,499$, $p = 0,393$ и $p = 0,209$ соответственно).

Сравнительный анализ реципиентов с клинической картиной острого отторжения легочного трансплантата с последующей верификацией отторжения при исследовании материала трансbronхиальной биопсии, и реципиентов без осложнений выявило значимые различия: у пациентов с верифицированным острым отторжением установлены более высокие

уровни miR-27 и miR-101 ($p = 0,010$ и $p = 0,032$ соответственно), что отражено на рис. 10.

В группе реципиентов с признаками обструктивных процессов в бронхиальных путях (стеноз бронхов) трансплантированных легких медиана экспрессии miR-339 превосходила ($p = 0,036$) таковую в группе пациентов без осложнений (рис. 11).

В отношении остальных четырех микроРНК подобных различий не установлено ($p > 0,05$).

Специальные лабораторные исследования, включавшие измерение содержания биомаркеров, потенциально значимых при трансплантации солидных органов (галектина-3 и sCD40L), в плазме крови реципиентов

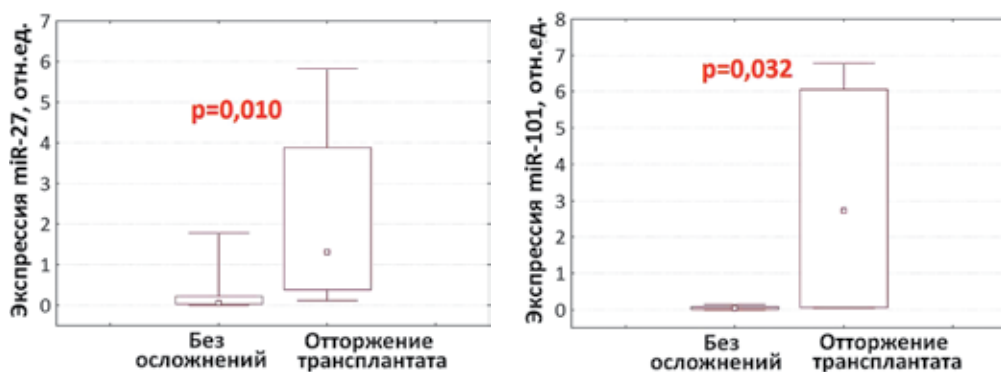


Рис. 10. Сравнительный анализ экспрессии miR-27 и miR-101 у реципиентов легких без осложнений и с острым отторжением трансплантата

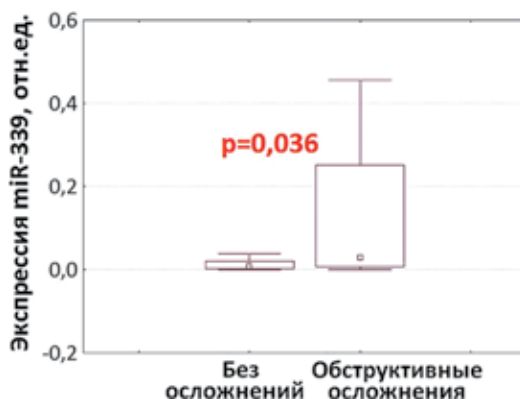


Рис. 11. Сравнительный анализ экспрессии miR-339 у реципиентов легких без осложнений и с развитием обструктивных процессов в бронхах трансплантата

с различным течением послеоперационного периода показали, что концентрация галектина-3 у реципиентов с обструктивными изменениями бронхиальных путей значительно выше, чем у реципиентов без нежелательных событий в послеоперационном периоде ($p = 0,014$).

Не было выявлено прямой связи величины sCD40L с основными факторами тяжелого течения реабилитационного периода после ТЛ: содержание sCD40L в плазме крови реципиентов с течением инфекционных процессов, острым отторжением трансплантата или обструктивных изменений бронхиальных путей значимо не различалось при сравнении реципиентами без указанных осложнений ($p = 0,41$, $p = 0,290$ и $p = 0,843$ соответственно).

В соответствии с задачами, поставленными в работе, выделен ряд микроРНК, экспрессия которых существенно возрастает в зависимости от характера послеоперационных осложнений. В настоящем пилотном исследовании объем выборки реципиентов с острым отторжением трансплантата (5 образцов от 3 пациентов) не позволяет произвести адекватную оценку диагностической значимости miR-27 и miR-101 в отношении данного осложнения, и представляет интерес для дальнейшего изучения.

Вместе с тем удалось рассчитать диагностически значимую пороговую величину экспрессии miR-339 в отношении развития обструктивных процессов в бронхиальных путях, которая составила 0,020 отн. ед. На рис. 12 отражены результаты ROC-анализа, представленные ROC-кривой экспрессии miR-339 и графиком оптимального соотношения чувствительности и специфичности теста.

Согласно полученным результатам, площадь под кривой отличалась от величины 0,5 ($p = 0,029$), а относительный риск (RR) выявления обструк-

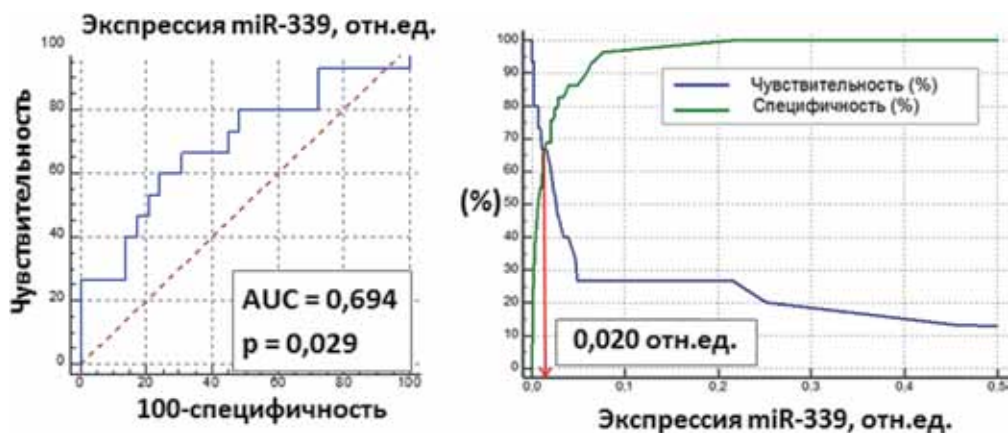


Рис. 12. ROC-кривая и график определения порогового уровня экспрессии miR-339 при развитии обструктивных процессов в бронхиальных путях

тивных процессов в бронхиальных путях у реципиентов с показателями экспрессии miR-339 выше порогового уровня составил ($RR = 2,625 \pm 0,424$ [95% ДИ 1,144–6,023], $p = 0,023$).

Ввиду выявленных различий концентрации галектина-3 у реципиентов без осложнений и с развитием обструктивных процессов в бронхиальных путях, был произведен расчет его пороговой концентрации, которая составила 11,655 нг/мл; площадь под кривой отличалась от величины 0,5 ($p = 0,017$) при относительном риске $RR = 3,619 \pm 0,578$ [95% ДИ 1,165–11,239], $p = 0,026$ (рис. 13).

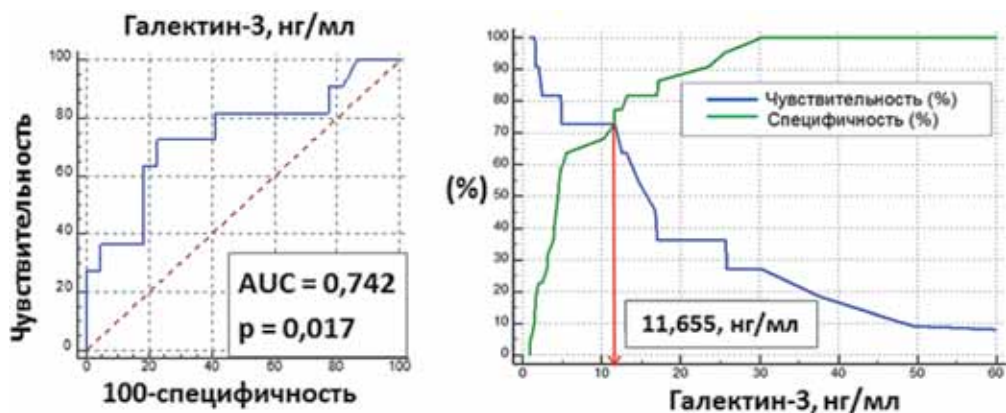


Рис. 13. ROC-кривая и график определения порогового значения концентрации галектина-3 при развитии обструктивных процессов в бронхиальных путях

Были оценены диагностические характеристики обоих тестов и их сочетания в отношении развития обструктивных процессов в бронхиальных путях у реципиентов после ТЛ (табл. 2).

Таблица 2

Диагностические характеристики измерения уровней miR-339 и галектина-3 в отношении выявления обструктивных процессов в бронхиальных путях у реципиентов легких при уровне выше пороговых значений

Биомаркер	RR	Границы 95% ДИ	Se	Sp	De
miR-339	2,625	[1,144–6,023]	60,0%	75,9%	70,4%
Галектин-3	3,619	[1,165–11,239]	72,7%	72,7%	78,8%
miR-339 + галектин-3	7,141	[1,049–48,601]	83,3%	81,8%	82,4%

Комплексный тест, включающий измерение экспрессии miR-339 и концентрации галектина-3, обладает наибольшей диагностической эф-

фективностью (82,4%) в отношении выявления реципиентов со стенотическими изменениями бронхов после ТЛ.

Результаты настоящей работы показали, что измерение уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов легких с одной стороны – расширяет представления о механизмах патологических процессов легочного трансплантата, открывая пути для возможного влияния на их течение, с другой стороны – может стать клинически значимым неинвазивным индикатором развития посттрансплантационных осложнений. Дальнейшее изучение как отдельных микроРНК, так и мультимаркерных тестов на их основе обеспечивает развитие новых подходов к диагностике и лечению реципиентов после трансплантации легких.

Выводы

1. У пациентов с тяжелой хронической дыхательной недостаточностью средний уровень экспрессии микроРНК miR-27, miR-101 и miR-339 в плазме крови достоверно выше, чем у здоровых лиц; наибольшие изменения величины экспрессии микроРНК выявлены у пациентов с муковисцидозом. Выявлена связь экспрессии miR-27 с величиной индекса массы тела ($r = -0,44$; $p = 0,02$), содержанием лейкоцитов ($r = 0,498$; $p = 0,018$), концентрацией креатинина ($r = -0,640$; $p = 0,002$) и глюкозы ($r = 0,561$; $p = 0,019$); miR-142 – с содержанием тромбоцитов ($r = 0,609$; $p = 0,004$), билирубина ($r = -0,531$; $p = 0,016$) и мочевины ($r = -0,631$; $p = 0,003$).
2. Средняя величина экспрессии miR-27, miR-101, miR-142, miR-339 и miR-424 у реципиентов легких варьирует в широких пределах в ранние и отдаленные сроки после трансплантации и не зависит от содержания иммуносупрессивных препаратов (такролимуса и эверолимуса) в крови реципиентов.
3. В отдаленные сроки после трансплантации легких у реципиентов выявлена прямая корреляция уровня экспрессии miR-27, miR-142 и miR-424 с содержанием лейкоцитов в крови; обратная – уровня экспрессии miR-27 с величиной индекса массы тела ($r = -0,328$; $p = 0,047$).
4. Повышение экспрессии miR-142 связано со снижением показателей функции внешнего дыхания: величиной ОФВ1 ($r = -0,663$; $p = 0,025$) до трансплантации; индексом Тиффно – до и после трансплантации ($p = 0,028$ и $p = 0,04$ соответственно).
5. У реципиентов с верифицированным острым отторжением легочного трансплантата величина экспрессии miR-27 и miR-101 достоверно выше ($p = 0,010$ и $p = 0,032$ соответственно), чем у реципиентов без посттрансплантационных осложнений.

6. При величине экспрессии miR-339 выше рассчитанного порогового значения (0,020 отн. ед.) риск развития обструктивных процессов в бронхиальных путях у реципиентов легких выше, чем у реципиентов с величиной экспрессии ниже такового ($RR = 2,6 \pm 0,42$ [95% ДИ 1,14–6,02]; чувствительность – 60%; специфичность – 75,9%).
7. Оценка уровня экспрессии miR-339 совместно с измерением концентрации галектина-3 повышает диагностическую эффективность теста в отношении обструктивных процессов в бронхиальных путях ($RR = 7,1 \pm 0,98$ [95% ДИ 1,05–48,60]; чувствительность – 83,3%, специфичность – 81,8%).

Практические рекомендации

Контроль уровня экспрессии miR-27, miR-101, miR-142 и miR-339 может быть использован для мониторинга состояния пациентов, страдающих муковисцидозом, ожидающих трансплантацию легких.

Измерение величины экспрессии miR-27 и miR-101 может быть полезным для выявления пациентов с риском развития острого отторжения легочного трансплантата.

Измерение уровня экспрессии miR-339 и концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов легких может быть рекомендовано в качестве эффективного неинвазивного способа диагностики обструктивных процессов в бронхиальных путях, приводящих к структурным изменениям трансплантата.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. К проблеме предупреждения послеоперационных инфекционных осложнений в хирургии высоких технологий. Состояние вопроса / **С.О. Шарапченко**, Н.И. Габриэлян, Р.Ш. Сайтгареев, В.М. Захаревич, И.В. Драбкина, Н.М. Есенова, Л.Ю. Ромашкина, Т.Б. Сафонова, М.И. Петрухина, Л.Г. Столярова, Г.Н. Мельникова // Медицинский алфавит. – 2018. – Т. 1. – № 10 (347). – С. 9–14.
2. МикроРНК у реципиентов легких: перспективы клинического применения / Д.А. Великий, **С.О. Шарапченко**, И.В. Пашков, О.Е. Гичкун, О.П. Шевченко // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 2. – С. 138–144.
3. Экспрессия молекул микроРНК у пациентов с терминальной стадией заболеваний легких различной этиологии / О.Е. Гичкун, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, **С.О. Шарапченко**, Д.А. Великий, О.П. Шевченко // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 5. – С. 61–62.

4. Особенности профиля экспрессии микроРНК у потенциальных реципиентов легких / О.П. Шевченко, О.М. Цирульникова, О.Е. Гичкун, И.В. Пашков, **С.О. Шарапченко**, Д.А. Великий // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – № 3. – С. 33–38.
5. Уровень экспрессии микроРНК в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов сердца / Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, **С.О. Шарапченко**, О.П. Шевченко, А.О. Шевченко // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 1. – С. 26–34.
6. 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. Олешкевич, М.Т. Беков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 86–96.
7. Связь уровня экспрессии микроРНК в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией биомаркеров посттрансплантационных осложнений / Д.А. Великий, О.Е. Гичкун, А.А. Улыбышева, **С.О. Шарапченко**, А.В. Марченко и др. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 69–78.
8. Связь экспрессии микроРНК с показателями функции внешнего дыхания у пациентов с хронической дыхательной недостаточностью и реципиентов легких / О.П. Шевченко, **С.О. Шарапченко**, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, М.Т. Беков, Д.О. Олешкевич, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. – 2020. – С. 55.
9. Анализ корреляции экспрессии микроРНК с клиническими и лабораторными данными пациентов до и после трансплантации легких / **С.О. Шарапченко**, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий, Е.Ф. Шигаев, О.П. Шевченко // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. – 2020. – С. 57.
10. Изучение связи концентрации биомаркеров фиброза галектина-3 и костимуляции лимфоцитов sCD40L у пациентов до и после трансплантации легких с показателями экспрессии микроРНК / О.П. Шевченко, **С.О. Шарапченко**, О.М. Цирульникова, И.В. Пашков, О.Е. Гичкун, Д.А. Великий // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. – 2020. – С. 59.

Список сокращений

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
ГГТ	– гамма-глутамилтрансфераза
ДИ	– доверительный интервал
СРБ	– С-реактивный белок
ИМТ	– индекс массы тела
ИФА	– иммуноферментный анализ

КТ	– компьютерная томография
ЛАГ	– легочная артериальная гипертензия
микроРНК	– микрорибонуклеиновая кислота
отн. ед.	– относительные единицы
ОФВ1	– объем форсированного выдоха в 1 секунду
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
ТББ	– трансбронхиальная биопсия
ТЛ	– трансплантация легких
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
ФЖЕЛ	– форсированная жизненная емкость легких
ХОБЛ	– хроническая обструктивная болезнь легких
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭДТА	– этилендиаминуксусная кислота
ISHLT (англ., International society for heart and lung transplantation)	– Международное общество трансплантации сердца и легких
miR	– микроРНК
sCD40L	– растворимая форма лиганда CD40

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

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ТКАНЕВЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Баранова Н.В., Севастьянов В.И.

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

По данным Международной федерации диабета, учитывая диагностические критерии ВОЗ, заболеваемость в мире сахарным диабетом увеличится к 2030 году до 439 млн человек [Shaw J.E. et al., 2010], при этом доля пациентов с сахарным диабетом 1-го типа (СД 1) составит примерно 10% [Stanekzai J. et al., 2012; Дедов И.И. и др., 2017].

Применение традиционного метода лечения – инсулинотерапии не спасает больных от развития тяжелых осложнений сахарного диабета, таких как ангиопатия, нейропатия и других. Самые совершенные способы и схемы введения инсулина не способны обеспечить профилактику и эффективное лечение этих осложнений, что обусловлено тем, что аутоиммунное повреждение β -клеток приводит не только к снижению и потере секреции эндогенного инсулина, но также и биологически активных эндогенных полипептидов (С-пептид, N-пептид, амилин), в норме секретируемых β -клетками [Wahren J. et al., 2015]. Отсутствие этих факторов приводит к формированию поздних диабетических осложнений.

Трансплантация васкуляризованной донорской поджелудочной железы (ПЖ) как заместительная терапия β -клетками способна полностью восстановить нормогликемию, достичь инсулинонезависимости и отсрочить осложнения диабета [Готье С.В. и др., 2019; Sackett S.D. et al., 2018]. Однако органная пересадка – серьезная инвазивная операция, подвергаящая пациентов серьезному риску развития хирургических и инфекционных осложнений. Необходимость применения жестких критериев в отборе донорской поджелудочной железы приводит к значительному уменьшению доступности данного вида трансплантационного лечения сахарного диабета 1-го типа [Venturini M. et al., 2005].

Аллотрансплантация островков Лангерганса (ОЛ), рассматриваемая в качестве альтернативы пересадки поджелудочной железы для лечения са-

харного диабета 1-го типа, способна обеспечить инсулинонезависимость больных на определенный срок, не подвергая больных серьезному хирургическому вмешательству [Ricordi C. et al., 2008; Bottino R. et al., 2018; Matsumoto S., 2010; Shapiro A.M. et al., 2017]. Однако существенным недостатком трансплантации панкреатических островков является низкая функциональная активность, обусловленная действием ряда повреждающих факторов во время процедуры выделения и культивирования, в частности, нарушением взаимодействия островковых клеток с внеклеточным матриксом (ВКМ), играющим важную роль в функционировании островков Лангерганса [Bosco D. et al., 2010; Amer L.D. et al., 2014]. Сохранению структуры и функции панкреатических островков в условиях *in vitro* и *in vivo* способствуют искусственные матриксы – биомиметики внеклеточного матрикса, обеспечивающие островкам Лангерганса, необходимое для их жизнедеятельности микроокружение, близкое по свойствам к внеклеточному матриксу.

Современные методы тканевой инженерии и регенеративной медицины позволяют надеяться на перспективность биомедицинских технологий, основанных на создании эквивалента поврежденной ткани (органа), в том числе, тканеинженерной конструкции – тканевого эквивалента эндокринного отдела поджелудочной железы, сформированного на основе островков Лангерганса или других инсулинпродуцирующих клеточных компонентов и биосовместимого матрикса [Готье С.В. 2018; Севастьянов В.И. и др., 2015]. Несмотря на малочисленность работ, находящихся на стадии экспериментальных разработок [Harrison R.H. et al., 2014; Lemos N.E. et al., 2017; Mirmalek-Sani S.H. et al., 2013; Yu H. et al., 2018; Peloso A. et al., 2016] показано, что возможно создание тканевых эквивалентов поджелудочной железы (ТЭ ПЖ), как для стимуляции внутреннего регенеративного потенциала поврежденной поджелудочной железы [Скалецкий Н.Н. и др., 2015], так и для частичной или полной замены ее эндокринной функции [Salg G.A. et al., 2019; Salvatori M. et al., 2014]. Основными задачами при создании тканевых эквивалентов поджелудочной железы являются определение оптимальных условий выделения и культивирования островков Лангерганса, поиск матрикса, обеспечивающего наилучшие условия для поддержания функциональной активности островков.

Цель исследования

Разработать и исследовать *in vitro* экспериментальные модели тканевых эквивалентов эндокринного отдела поджелудочной железы, сформированных на основе островков Лангерганса крысы и биомиметиков внеклеточного матрикса.

Задачи исследования

1. Модифицировать ферментативную методику выделения островков Лангерганса из поджелудочной железы крысы с целью повышения качества и количества выделяемых островков.
2. Исследовать влияние биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса на жизнеспособность островков Лангерганса крысы.
3. Изучить влияние мезенхимальных стромальных клеток костного мозга крысы на жизнеспособность монокультуры островков Лангерганса крысы и в присутствии биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса.
4. Разработать способ получения и исследовать морфологические и функциональные свойства образцов тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной поджелудочной железы крысы.
5. Исследовать *in vitro* морфофункциональное состояние островков Лангерганса крысы в монокультуре и в присутствии биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса и тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной поджелудочной железы крысы.
6. Провести сравнительный анализ секреторной способности и функциональной (под нагрузкой) активности *in vitro* монокультуры островков Лангерганса и экспериментальных моделей тканевых эквивалентов поджелудочной железы.

Научная новизна

- разработан модифицированный способ выделения островков Лангерганса из ткани поджелудочной железы крысы, позволяющий получать значительное количество жизнеспособных изолированных островков;
- разработан протокол децеллюляризации поджелудочной железы крысы, дающий возможность получать тканеспецифический матрикс с сохранением основных белков внеклеточного матрикса панкреатической ткани, низкой иммуногенностью и отсутствием цитотоксичности;
- разработаны протоколы получения лабораторных образцов экспериментальных моделей тканевых эквивалентов поджелудочной железы на основе изолированных островков Лангерганса, биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса и тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной поджелудочной железы крысы;

- проведен сравнительный анализ влияния биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса и тканеспецифического матрикса из децеллюляризированной поджелудочной железы крысы на морфофункциональное состояние островков Лангерганса;
- для экспериментальных моделей тканевых эквивалентов поджелудочной железы установлено не только существенное увеличение базальной и стимуляционной (под нагрузкой глюкозой) концентрации инсулина, но и пролонгирование инсулинпродуцирующей функции *in vitro* по сравнению с изолированными островками Лангерганса в монокультуре.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты являются основой для проведения исследований по созданию тканевого эквивалента / тканеинженерной конструкции поджелудочной железы человека на основе тканеспецифического матрикса из децеллюляризированной ксеногенной ткани поджелудочной железы и аллогенных островков Лангерганса посмертных доноров.

Методология и методы диссертационного исследования

Объектами для исследования явились поджелудочная железа крысы, островки Лангерганса, выделенные из поджелудочной железы крысы, образцы матриксов (биополимерного коллагенсодержащего и тканеспецифического) и образцы тканевых эквивалентов поджелудочной железы.

Наблюдение за островками Лангерганса в монокультуре и в составе культуральных систем с матриксами осуществляли с помощью инвертированного и люминесцентного микроскопа. Морфологический анализ образцов исходной поджелудочной железы, тканеспецифического матрикса из децеллюляризированной ткани поджелудочной железы и островков Лангерганса в монокультуре и в составе культуральных систем с матриксами проводили с использованием как рутинных гистологических, так и специфических иммуногистохимических методов окрашивания. Базальную и стимулированную секрецию инсулина *in vitro* определяли путем измерения концентрации гормона в культуральной жидкости с помощью иммуноферментного метода.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Модифицированная методика выделения островков Лангерганса позволяет получать значительное количество жизнеспособных изолированных островков менее трудоемким и более простым способом по сравнению с традиционной коллагеназной методикой.

2. Биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогелевый матрикс положительно влияет на сохранность морфофункциональных свойств культуры островков Лангерганса *in vitro*.
3. Разработанный способ получения тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной поджелудочной железы дает возможность получать матрикс с сохранением основных белков внеклеточного матрикса панкреатической ткани, свободный от клеток и с максимально низким содержанием ДНК.
4. Показано преимущество применения тканеспецифического матрикса для создания тканевых эквивалентов поджелудочной железы по сравнению с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелевым матриксом.
5. Разработанные экспериментальные модели тканевых эквивалентов поджелудочной железы, сформированные на основе выделенных островков Лангерганса и матриксов – биомиметиков внеклеточного матрикса обладают секреторной способностью и функциональной (под нагрузкой) активностью *in vitro*.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечивается четкой постановкой задач исследования, применением методик, ориентированных на традиционные способы выделения островков Лангерганса из панкреатической ткани и децеллюляризации поджелудочной железы, а также достаточным применением современных и адекватных лабораторных (гистологических, иммуногистохимических и иммуноферментных) методов исследования на лицензированном оборудовании, корректных методов статистической обработки данных и критической оценкой полученных результатов при сравнении с данными современной научной литературы.

Апробация работы состоялась 26 июня 2020 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.); III Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 15–18 ноября 2017 г.); на IX Всероссийском съезде трансплантологов, (Москва, 16–19 сентября 2018 года); IV Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 20–23 ноября 2019 г.).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в отдел 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 лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Материалы и методы исследований

Для выделения островков Лангерганса (ОЛ) и получения тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной ткани поджелудочной железы была использована поджелудочная железа (ПЖ) половозрелых крыс-самцов породы Wistar весом 180–220 г ($n = 60$), полученных из питомника лабораторных животных Федерального государственного унитарного предприятия «Опытно-производственное хозяйство «Манихино» с представлением ветеринарного свидетельства, подтверждавшего отсутствие в хозяйстве инфекционных заболеваний.

Все манипуляции с животными проводили с соблюдением биоэтических принципов, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных (2005 г.) и в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России № 708 от 23.08.2010 г.

Описание модифицированной методики выделения (изоляции) островков Лангерганса и их идентификации

Выделение островков из ПЖ половозрелой крысы проводили, ориентируясь на традиционную (классическую) методику с использованием коллагеназы [Ricordi C. et al., 2008; Lacy P.E. et al., 1967] с некоторыми модификациями [Баранова Н.В. и др., 2018]. Модификацию методики проводили с целью оптимизации методических приемов, которые способствуют повышению качества и количества выделяемых островков.

Последовательными инъекциями интрапаренхиматозно вводили в панкреатическую ткань субтотально удаленной ПЖ 5–6 мл раствора коллагеназы I типа («Sigma», США) с активностью 100–110 ед/мл. Растянутую ПЖ, не разрезая, аккуратно разделяли на 10–12 примерно равных частей и инкубировали 40–45 мин в орбитальном шейкер-инкубаторе (Biosan

ES-20/60) при температуре 37,0 °С в следующем режиме: 30 мин – 0 об/мин (статика), 10 мин – со скоростью вращения 150 об/мин. Переваривание останавливали добавлением холодного (+4 °С) раствора Хенкса. Образовавшиеся мелкие фрагменты фильтровали через металлическое сито с диаметром ячеек 0,6 мм. Перевар собирали в конические пробирки и центрифугировали 40–50 секунд при скорости 600–700 об/мин. В образовавшемся осадке визуализировались клетки ацинарной ткани и одиночные островки. Основная масса ОЛ выявлялась в супернатанте. Супернатант дважды отмывали 1–1,5 мин при 1200–1300 об/мин для получения суспензии ОЛ. Идентификацию ОЛ осуществляли, проводя окрашивание дитизоном. В чашку Петри вносили 0,2–0,4 мл тканевой взвеси, добавляли 0,1–0,2 мл раствора дитизона и инкубировали в термостате в течение 20–30 мин при 37 °С.

Биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогелевый матрикс

В качестве биополимерного матрикса – биомиметика внеклеточного матрикса (ВКМ) была выбрана инъекционная форма биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса (БМКГ матрикса) из линейного ряда продуктов «Композиция гетерогенного имплантируемого геля» (торговый знак «Сфера® ГЕЛЬ», производитель Акционерное общество «БИОМИР сервис», Россия, г. Краснознаменск, № ФСР 2012/13033 от 01.02.2012 г.), предназначенная для применения в клеточных технологиях (рис. 1).

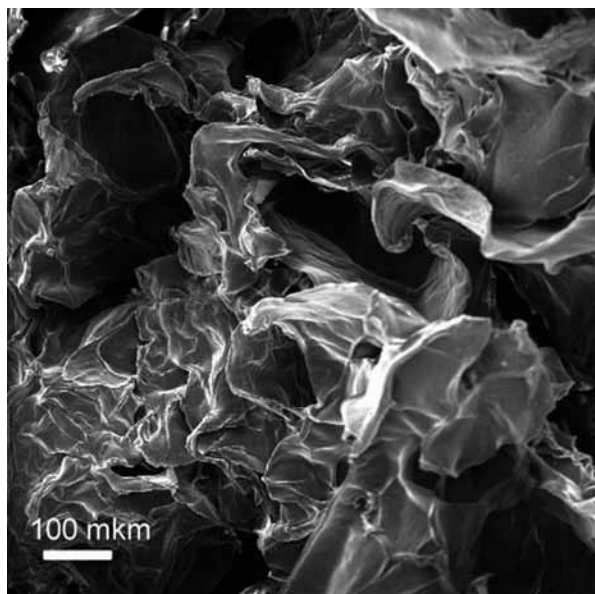


Рис. 1. Микроструктура биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса. Характеристические свойства: средний размер микрочастиц – $145,79 \pm 0,09$ мкм; модуль упругости – 1170 ± 12 Па; модуль вязкости – $62,9 \pm 7,9$ Па; набухаемость – не ниже $86,6 \pm 3,0$ масс. %; время резорбции – до 9 месяцев

Тканеспецифический матрикс из децеллюляризованной ткани поджелудочной железы крысы

Для получения тканеспецифического матрикса из децеллюляризованной ткани поджелудочной железы (ДПЖ матрикса) с сохранением свойств исходного внеклеточного матрикса (архитектоника, основной состав) разработан способ физико-химической децеллюляризации ПЖ крысы с использованием растворов поверхностно-активных веществ (ПАВ) высокой и низкой ионной силы (метод осмотического шока) с последующим тщательным удалением остатков ПАВ из децеллюляризованных фрагментов панкреатической ткани.

Фрагменты ПЖ, размером не более 1×2 мм, обрабатывали в условиях непрерывного перемешивания в ротационной системе MultiBio RS-24 (BioSan, Латвия) со скоростью 5 оборотов/мин последовательно в 0,1% растворе додецилсульфата натрия (SDS) на дистиллированной воде в течение 3 часов, в 0,1% растворе SDS на 1N NaCl в течение 3 часов и в 0,1% растворе SDS на фосфатно-солевом буфере (PBS, pH = 7,35) в течение 18 часов. На конечной стадии получения ДПЖ матрикса децеллюляризованные фрагменты панкреатической ткани отмывали от остатков ПАВ в течение 72 часов в трех сменах PBS, содержащего антибиотик и антимикотик, вносили в криопробирки, замораживали и стерилизовали (γ -стерилизации, 1,5 Мрад) (рис. 2).



Рис. 2. Тканеспецифический матрикс из децеллюляризованной поджелудочной железы крысы

Полученные образцы ДПЖ матрикса исследовали на цитотоксичность методом прямого контакта и иммуногенность: по флуоресцентному окрашиванию DAPI для качественного определения ядерного материала и флуоресцентному окрашиванию TM Picogreen Quant-iT для определения остаточного количества ядерного материала (ДНК) в ДПЖ матриксе. Проводили исследование функциональных свойств ДПЖ матрикса относительно его способности поддерживать адгезию и пролиферацию

клеток на культуре фибробластов мыши линии L929. Для исследования состава и структуры ДПЖ матрикса использовали методы гистологического анализа, включая иммуногистохимическое окрашивание на основные белки ВКМ ПЖ.

Исследование влияния биомиметиков внеклеточного матрикса (биополимерного коллагенсодержащего матрикса и тканеспецифического матрикса) и мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на жизнеспособность островков Лангерганса

Сравнительный анализ морфофункционального состояния ОЛ при культивировании с различными матриксами и клетками проводили, исследуя различные культуральные системы: островки, культивированные в суспензионной культуре (монокультура ОЛ), островки, культивированные с БМКГ матриксом, островки, культивированные с мезенхимальными стромальными клетками костного мозга (МСК КМ) и БМКГ матриксом и островки, культивированные с ДПЖ матриксом. Культивирование ОЛ во всех культуральных системах проводили в культуральных флаконах площадью 25 см² (Corning, США) в среде DMEM/F12 (1 : 1), содержащей глюкозу (1,0 г/л), 10% эмбриональную телячью сыворотку, 2 мМ L-глутамина, 1 М Нерес и 50 мкг/мл гентамицина при 37,0 °С в увлажненной атмосфере, содержащей 5% CO₂. Смену культуральной среды осуществляли через 2 суток инкубации.

Монокультура ОЛ без добавления матриксов и клеток рассматривалась в качестве контроля.

Инкубацию ОЛ проводили с матриксами:

- ресуспендированный БМКГ матрикс – «Сферо® ГЕЛЬ»;
- ДПЖ матрикс – стерильная суспензия фрагментов децеллюляризованной поджелудочной железы в PBS, дополнительно измельченная до среднего размера микрофрагментов 500 ± 45 мкм для уменьшения степени микрогетерогенности.

Ориентируясь на литературные данные [Karaoz E. et al., 2010; Scuteri A. et al., 2014; Nematti P. et al., 2013] о позитивном влиянии МСК на выживаемость ОЛ было предположено, что совместное культивирование ОЛ с БМКГ и МСК, возможно, приведет к синергическому эффекту, что будет выражаться в значительном пролонгировании жизнеспособности ОЛ ПЖ *in vitro*. Для изучения влияния МСК КМ крысы, выделенных из аспирата костного мозга крысы, на сохранность и жизнеспособность изолированных ОЛ была проведена серия экспериментов, включая инкубацию с БМКГ матриксом.

Ежедневный мониторинг и фотосъемку культивируемых островков (контрольных и опытных) проводили с помощью инвертированного мик-

роскопа Nikon Eclipse TS 100 (Nikon, Япония), оснащенного цифровой фотокамерой.

Определение жизнеспособности островков Лангерганса и клеток в различных культуральных системах

Для определения жизнеспособности ОЛ, МСК КМ и фибробластов в различных культуральных системах проводили флуоресцентное окрашивание акридиновым оранжевым и пропидиум-йодидом (АО/PI). Для этого 0,2–0,4 мл островковой или клеточной суспензии помещали в чашку Петри, добавляли 0,02–0,03 мл готового раствора красителя и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 15–17 минут. Результат оценивали с помощью люминесцентного микроскопа Nikon Eclipse 50i (Nikon, Япония).

Морфологическое исследование

Образцы исходной ПЖ крысы, ДПЖ матрикса, свежевыделенные ОЛ, а также ОЛ, культивированные в монокультуре и в различных культуральных системах, подвергали морфологическому исследованию с помощью рутинных гистологических и специальных иммуногистохимических методов окрашивания.

Материал, зафиксированный в 10%-ном забуференном растворе формалина или жидкости Буэна, после рутинной процедуры обезвоживания заливали в парафин. Депарафинированные и регидратированные срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Массона, по методу Унны–Тенцера, а также подвергали иммуногистохимическому окрашиванию на инсулин и на коллаген I и IV типа.

Анализ и фотосъемку полученных гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа Nikon Eclipse, оснащенного цифровой фотокамерой.

Исследование инсулинпродуцирующей функции островков Лангерганса

Для определения базальной и стимулированной (под нагрузкой глюкозой до 4,5 г/л) концентрации инсулина в культуральной среде использовали набор для иммуноферментного анализа (ИФА) Rat Insulin ELISA Kit (Invitrogen, США).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью приложения Microsoft Excel 2007. Результаты количественного метода ИФА рассчитывали по линейной калибровочной кривой. Все результаты

представлены в виде среднего значения $\pm$ среднеквадратичное отклонение. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Исследование свежевыделенных островков Лангерганса крысы

Значительная часть свежевыделенных ОЛ, наблюдаемая в инвертированном микроскопе, сохраняла целостность, что свидетельствовало о том, что в процессе изоляции макроструктура островков не была повреждена (рис. 3, а). При окрашивании дитизоном ОЛ демонстрировали терракотово-красный цвет, при этом остатки ацинарной ткани оставались неокрашенными (рис. 3, б). Окрашивание позволяло не только идентифицировать ОЛ, но и подсчитать их количество: в 1 мл островково-клеточной суспензии содержалось 235 ± 12 островков. В целом, из одной ПЖ крысы нам удавалось выделить не менее 800–900 ОЛ. Прижизненное флуоресцентное окрашивание свежевыделенных ОЛ показало практически 100% выживаемость островков (рис. 3, в). Полученные нами показатели выхода и жизнеспособности изолированных ОЛ сравнивали с данными аналогичных исследований, опубликованными в научной литературе. Так, в работе [Pang X. et al., 2015] в результате интрадуктального введения коллагеназы и последующей очистки свежевыделенных ОЛ в гравитационном градиенте плотности выход составил около 700 островков с жизнеспособностью 95%. Таким образом, оптимизация методических приемов позволила повысить выход и жизнеспособность свежевыделенных ОЛ. Проведенное гистологическое исследование показало, что островки на данном этапе сохраняли характерную для них структуру с преобладанием инсулинпозитивных β -клеток (рис. 3, г).

Результаты культивирования монокультуры островков Лангерганса

Островки, культивированные в монокультуре (контроль), в течение первых трех суток инкубации сохраняли первоначальные внешние характеристики. Прижизненное окрашивание АО/PI демонстрировало зеленую флуоресценцию ОЛ, подтверждающую их жизнеспособность. Через 3 суток культивирования поверхность ОЛ приобретала неровные очертания, в некоторых островках наблюдались появление полостей и признаки фрагментации (рис. 4, а). Флуоресцентное окрашивание выявляло в сохранившихся островках, наряду с живыми клетками (зеленая флуоресценция), появление погибших клеток (красная флуоресценция) (рис. 4, б). Таким образом, к 6 суткам культивирования в стандартных условиях большая часть ОЛ в монокультуре претерпевала деструктивные изменения.

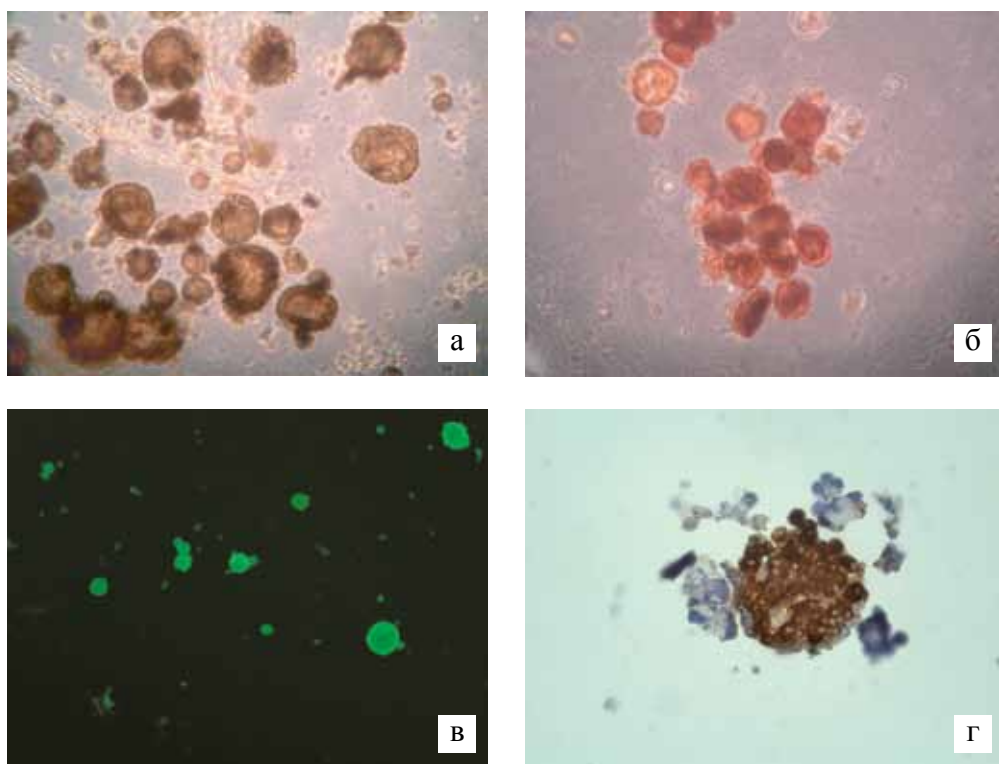


Рис. 3. Свежевыделенные островки Лангерганса крысы:
а – инвертированный микроскоп, $\times 200$; б – окрашивание дитизоном, $\times 100$; в – флуоресцентное окрашивание, $\times 100$;
г – иммуногистохимическое окрашивание антителами к инсулину, $\times 200$

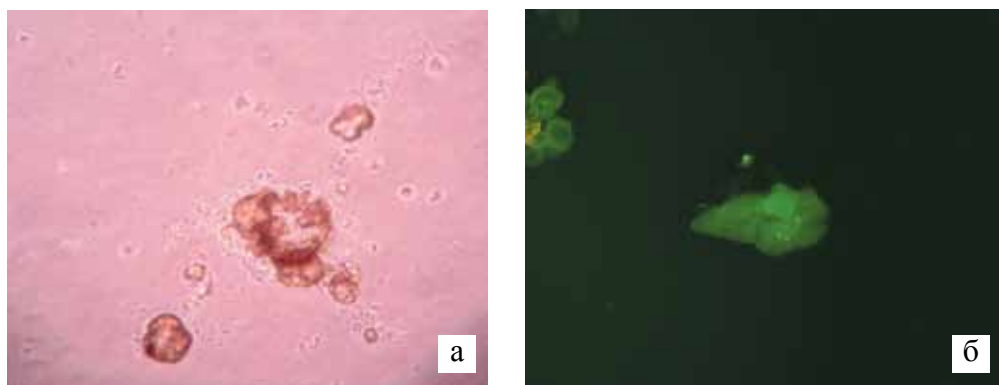


Рис. 4. Деструктивные изменения монокультуры островков Лангерганса, 6 суток культивирования: а – инвертированный микроскоп; б – флуоресцентное окрашивание. $\times 100$

Результаты культивирования островков Лангерганса с биополимерным коллагенсодержащим матриксом

Островки, культивированные с БМКГ матриксом (опытная группа), сохраняли целостность, не фрагментировались и не обнаруживали признаков деградации структуры в течение 10 суток культивирования (рис. 5, а) по сравнению с монокультурой ОЛ. Флуоресцентное окрашивание подтверждало жизнеспособность опытных ОЛ на протяжении всего срока наблюдения (рис. 5, б).

Изучение эффектов сокультивирования МСК КМ и ОЛ проводили на культуральных системах, представленных на рис. 6: ОЛ с БМКГ (контроль I), ОЛ с МСК КМ – два способа введения (контроль IIа и контроль IIб) и ОЛ с МСК КМ и БМКГ (опыт).

В процессе сокультивирования изолированных ОЛ с МСК КМ (контроль IIа и контроль IIб) позитивного влияния МСК на жизнеспособность панкреатических островков нами не отмечалось. Напротив, изолированные ОЛ при сокультивировании с МСК КМ в короткий срок претерпевали деструктивные изменения и погибали. Этот результат для нас явился неожиданным, и объяснение наблюдаемого феномена, вероятно, требует дополнительного изучения.

Культивирование ОЛ с БМКГ и МСК КМ (опыт) также не способствовало длительному выживанию островков. Относительно больший срок выживания ОЛ по сравнению с инкубацией только с МСК КМ, возможно, объясняется наличием БМКГ в данной культуральной системе.

ОЛ (контроль I) не теряли своей трехмерной структуры, сохраняя первоначальные внешние характеристики, и не обнаруживали признаков деградации в течение 10 суток (рис. 6).

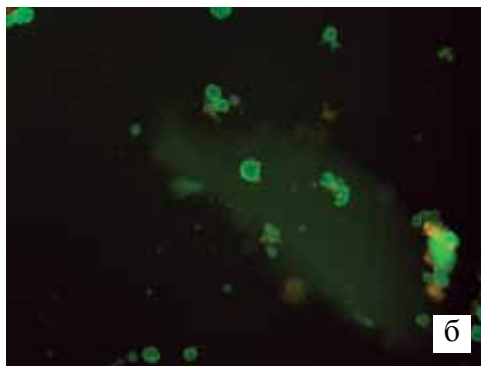


Рис. 5. Островки Лангерганса крысы, культивированные с биополимерным коллагенсодержащим матриксом:

***а – инвертированный микроскоп, 7 суток культивирования;
б – флуоресцентное окрашивание, 6 суток культивирования. ×100***

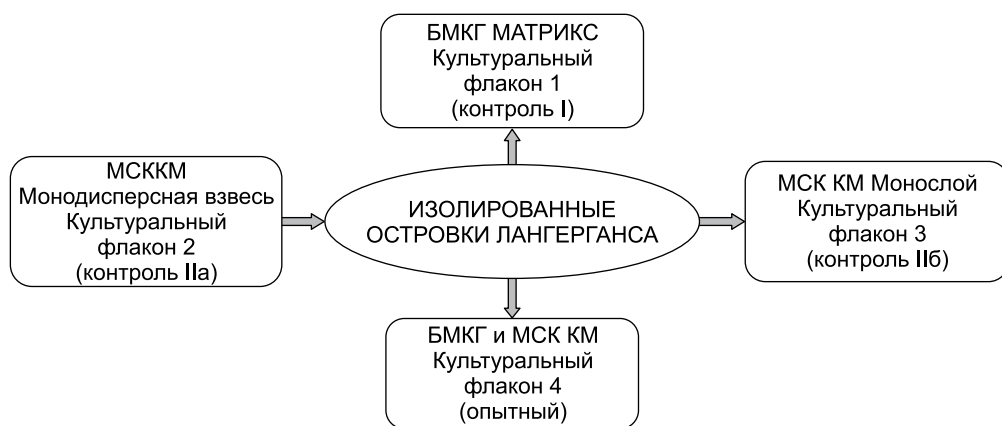


Рис. 6. Схема эксперимента по сокультивированию островков Лангерганса с мезенхимальными стромальными клетками костного мозга

Тканеспецифический матрикс из децеллюляризованной ткани поджелудочной железы крысы

Образцы децеллюляризованной ПЖ после воздействия растворов ПАВ высокой и низкой ионной силы и прошедшие стадию отмывки, демонстрировали в целом сохранность архитектоники стромы и были представлены ажурной волокнистой структурой, напоминающей ячеистую сеть. Сохранившиеся клетки и отдельные клеточные ядра в образцах не обнаруживались. Специфическое окрашивание с DAPI подтверждало отсутствие клеточных ядер и фрагментов ядерного материала в матриксе (рис. 7, а). Окрашивание образцов по методу Массона позволяло визуализировать сохраненные коллагеновые волокна в составе полученного матрикса (рис. 7, б), а окрашивание орсеином выявляло также наличие и эластических волокон (рис. 7, в). Проведенное иммуногистохимическое окрашивание антителами подтвердило наличие в децеллюляризованных образцах коллагена I и IV типа.

Количественный анализ содержания ДНК в децеллюляризованной ткани ПЖ крысы показал, что в результате децеллюляризации в ткани сохранилось не более 0,1% ДНК, что свидетельствует о низкой иммуногенности (относительно остаточного количества ДНК) полученного тканеспецифического ДПЖ матрикса.

Результаты исследования образцов ДПЖ матрикса на цитотоксичность методом прямого контакта показали отсутствие цитотоксического действия образцов данного матрикса.

Функциональные свойства ДПЖ матрикса: на 10-е сутки инкубации фибробластов мыши линии L929 наблюдалось интенсивное клеточное

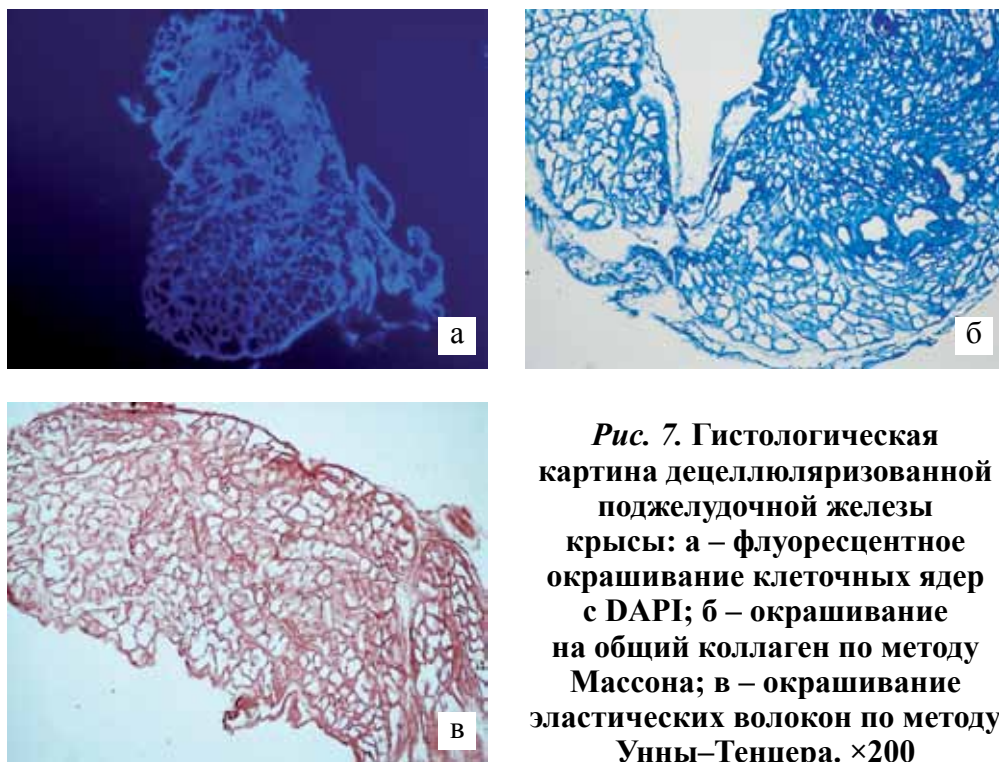


Рис. 7. Гистологическая картина децеллюляризованной поджелудочной железы крысы: а – флуоресцентное окрашивание клеточных ядер с DAPI; б – окрашивание на общий коллаген по методу Массона; в – окрашивание эластических волокон по методу Унны–Тенцера. $\times 200$

заселение ДПЖ матрикса. Жизнеспособные фибробласты располагались не только на поверхности ДПЖ матрикса, но и активно проникали в его глубокие слои.

Сравнительный анализ жизнеспособности островков Лангерганса при культивировании с биополимерным коллагенсодержащим матриксом и тканеспецифическим матриксом

Значительная часть островков через 1 сутки культивирования с БМКГ матриксом проявляла адгезивные свойства и прикреплялась к поверхности мелкодисперсных частиц матрикса, в то время как остальные островки продолжали флотировать. Такая картина практически не менялась в течение всего срока наблюдения (14 суток). Флуоресцентное окрашивание АО/РІ, проведенное на сроке 10 суток инкубации подтвердило жизнеспособность большинства сохранившихся к этому сроку островков (около 70,0%). После 10 суток инкубации наметилось снижение числа жизнеспособных ОІ, которое к 14 суткам составило 45–50% сохранившихся к этому сроку островков (рис. 8, а). При окрашивании гематоксилином и эозином ОІ представляли компактные образования, состоящие из некрупных светлых полигональных клеток с мелкозернистой цитоплазмой и

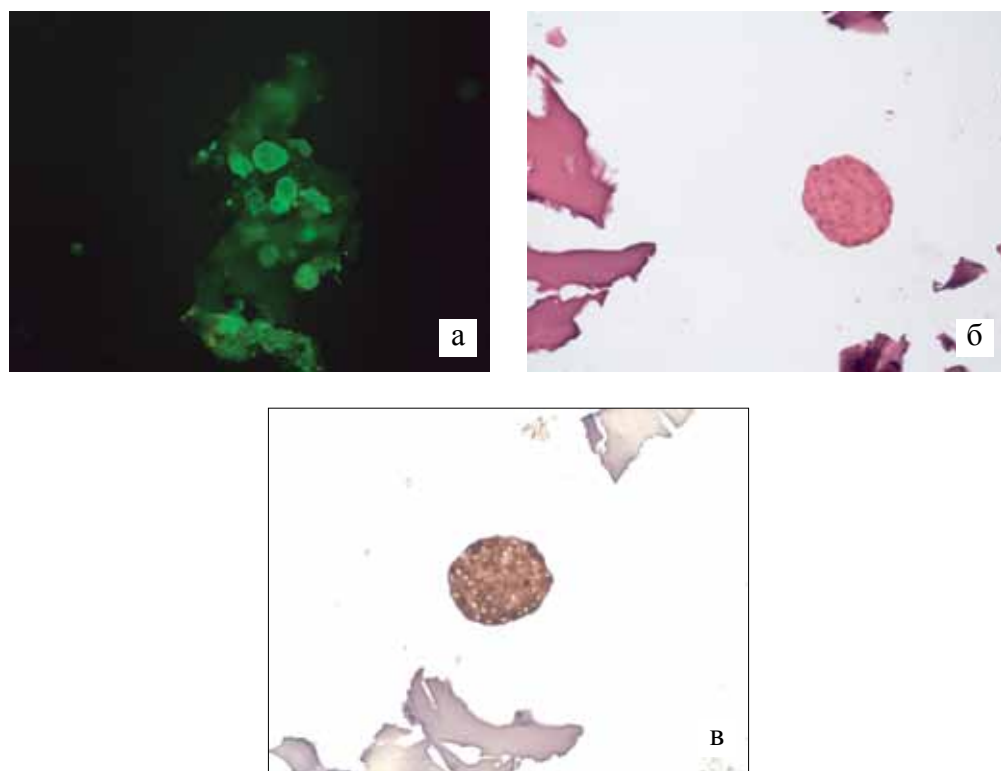


Рис. 8. Островки Лангерганса крысы в присутствии биополимерного коллагенсодержащего матрикса:
а – флуоресцентное окрашивание, 14 суток культивирования, $\times 100$;
б – гематоксин и эозин, 7 суток культивирования;
в – иммуногистохимическое окрашивание антителами к инсулину, 7 суток культивирования, $\times 200$

четко очерченным сферической формы ядром (рис. 8, б). При иммуногистохимическом окрашивании антителами к инсулину большинство клеток в ОЛ оказывалось иммунопозитивными β -клетками с обильной специфической зернистостью в цитоплазме (рис. 8, в).

ОЛ, культивированные с ДПЖ матриксом, не проявляли адгезивных качеств вплоть до 5 суток инкубации. В дальнейшем не менее половины культивированных ОЛ осаждались на поверхность ДПЖ матрикса (рис. 9, а, в). Флуоресцентное окрашивание АО/PI, проведенное на сроке 10 и 14 суток инкубации подтвердило жизнеспособность большинства сохранившихся островков – 85,0 и 70,0% соответственно (рис. 9, б), что заметно выше, чем жизнеспособность ОЛ, культивированных с БМКГ матриксом на этих же сроках.

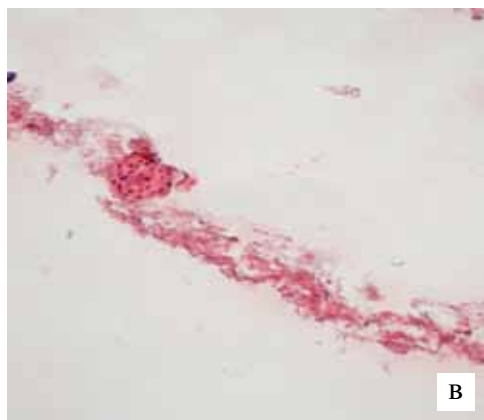
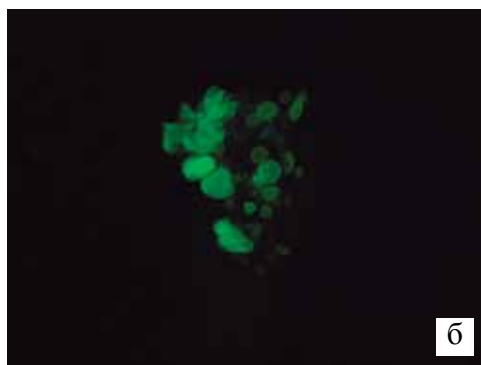
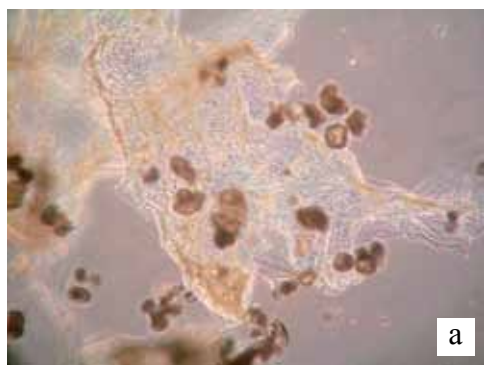


Рис. 9. Островки Лангерганса в присутствии тканеспецифического матрикса: а – инвертированный микроскоп, 7 суток культивирования, $\times 100$; б – флуоресцентное окрашивание, 14 суток инкубации, $\times 100$; в – гематоксилин и эозин, 7 суток культивирования, $\times 200$

Таким образом, исследование жизнеспособности ОЛ крысы при культивировании в присутствии биополимерного матрикса и ДПЖ матрикса продемонстрировало преимущество применения тканеспецифического матрикса по сравнению с БМКГ матриксом.

Сравнительный анализ инсулинпродуцирующей функции островков Лангерганса в монокультуре и при культивировании с биополимерным коллагенсодержащим матриксом и тканеспецифическим матриксом

Инсулинпродуцирующую функцию *in vitro* ОЛ в монокультуре (контрольная группа) и в присутствии биополимерного миметика ВКМ (БМКГ матрикса – опытная группа 1) и тканевого миметика ВКМ (ДПЖ матрикса – опытная группа 2) исследовали, определяя базальную концентрацию инсулина (секреторная способность) и концентрацию инсулина при стимуляции глюкозой (функциональная активность). Сравнительный анализ инсулинпродуцирующей функции опытных групп 1 и 2 проводили относительно контрольной группы.

Секреторную способность исследуемых культуральных систем определяли на сроках: 1, 2, 3, 6, 8 и 10 суток инкубации. На первые сутки культивирования концентрация инсулина в опытных группах 1 и 2 была выше на 26,2 и 48,7% по сравнению с контрольной группой, на третьи сутки инкубации – на 62,1 и 102,9% соответственно, по сравнению с контрольной группой (табл. 1). На шестые сутки наблюдали еще большую разницу (249,6 и 373,6%) между концентрациями инсулина опытных групп 1 и 2 и контролем. На 8–10 сутки инкубации сохранившиеся ОЛ контрольной группы не обнаруживались, поэтому культуральную среду не исследовали. На этих сроках в опытных группах концентрация инсулина практически оставалась неизменной: группа 1 – 93,7 $\mu\text{IE/mL}$, группа 2 – 126,9 $\mu\text{IE/mL}$, при этом уровень секреции инсулина в группе 2 был на 35,5% выше, чем в группе 1 (рис. 10).

Таблица 1

Повышение концентрации инсулина (%) в опытных группах относительно контрольной группы (монокультуры островков Лангерганса)

Сутки	Островки Лангерганса с биополимерным коллагенсодержащим матриксом (опытная группа 1)	Островки Лангерганса с тканеспецифическим матриксом (опытная группа 2)
1	26,2 $\pm$ 3,8	48,7 $\pm$ 4,0
2	31,6 $\pm$ 6,2	71,6 $\pm$ 5,7
3	62,1 $\pm$ 8,3	102,9 $\pm$ 5,8
6	249,6 $\pm$ 10,4	373,6 $\pm$ 6,9

Подтверждением длительной функциональной активности (наличия гормонально активных β -клеток) островков при культивировании с миметиками ВКМ явились результаты анализа проб культуральной жидкости, взятых на 3 сутки инкубации до и после стимуляции «гипергликемическим» уровнем глюкозы 4,5 г/л (25 ммоль/л) (рис. 11). Показатели концентраций инсулина после стимуляции глюкозой на третьи сутки инкубации в пробах контрольной группы увеличились на 20,8%, а в опытных группах 1 и 2 на 33,0 и на 50,7% соответственно.

Таким образом, БМКГ и ДПЖ матриксы положительно влияют не только на жизнеспособность ОЛ, но и на секреторную способность и функциональную активность островков.

Совокупность полученных результатов дает основание назвать культуральные системы ОЛ с БМКГ и ДПЖ матриксами экспериментальными моделями тканевых эквивалентов эндокринного отдела поджелудочной железы (ТЭ ПЖ) и предложить технологию изготовления их образцов с

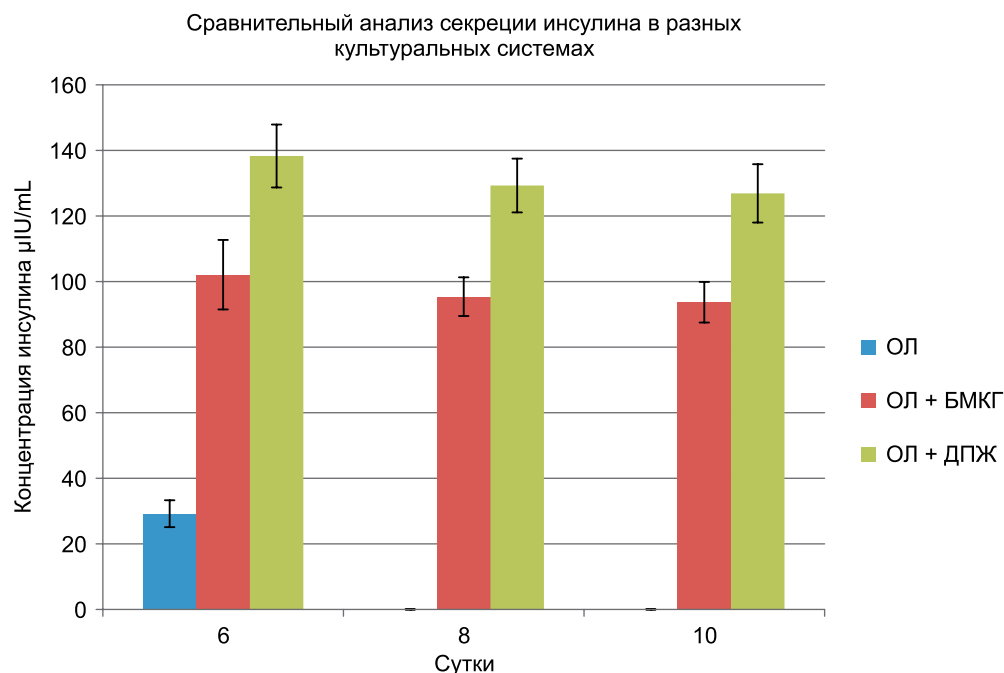


Рис. 10. Сравнительный анализ концентрации инсулина в контрольной (монокультура островков) и опытных (островки, культивированные с биополимерным коллагенсодержащим матриксом и тканеспецифическим матриксом соответственно) группах

необходимым комплексом методов оценки биосовместимых и функциональных свойств ТЭ ПЖ.

В исследованных моделях ТЭ ПЖ наблюдали не только лучшую сохранность ОЛ по сравнению с инкубацией монокультуры ОЛ в стандартных условиях, но и пролонгирование их секреторной способности и функциональной активности в течение 10 суток.

Выводы

1. В результате оптимизации методических приемов предложен модифицированный способ обработки поджелудочной железы крысы, позволяющий выделять значительное количество жизнеспособных островков Лангерганса менее трудоемким и более простым способом по сравнению с традиционной методикой.
2. Доказано положительное влияние биополимерного коллагенсодержащего матрикса на жизнеспособность и сохранность структуры культивируемых островков до 10 суток. При культивировании ост-

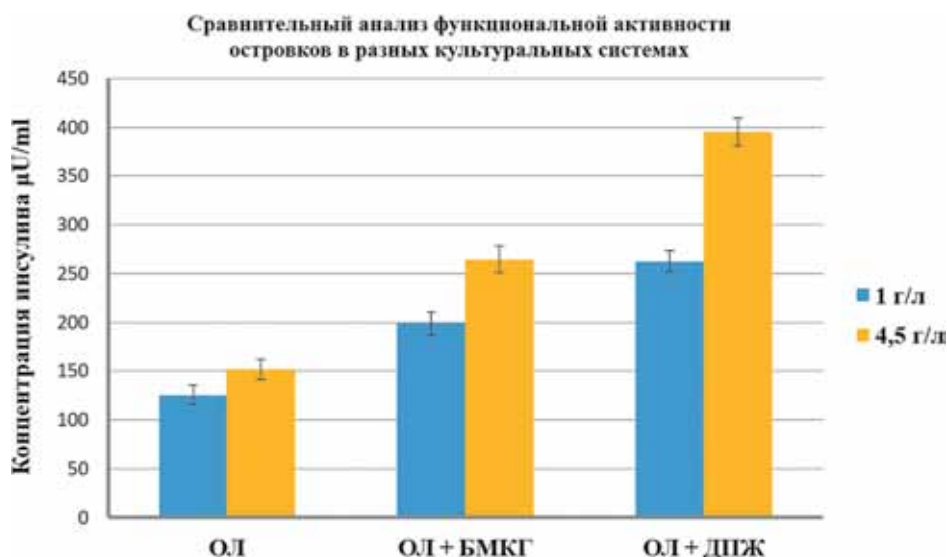


Рис. 11. Сравнительный анализ концентрации инсулина до и после стимуляции глюкозой в контрольной (монокультура островков) и опытных (островки с биополимерным коллагенсодержащим матриксом и островки с тканеспецифическим матриксом соответственно) группах на 3-и сутки культивирования

ровков в стандартных условиях деструктивные изменения наблюдали с 3 по 6 сутки инкубации.

3. Обнаружено, что дополнительное введение мезенхимальных стромальных клеток костного мозга в культуральную систему островков Лангерганса с биополимерным коллагенсодержащим матриксом отрицательно влияет на жизнеспособность островков. Сокультивирование монокультуры островков с мезенхимальными стромальными клетками костного мозга выявило деструктивные изменения островков уже на ранних сроках инкубации.
4. Разработана технология получения тканевого биомиметика внеклеточного матрикса из децеллюляризованной ткани поджелудочной железы крысы. В образцах тканеспецифического матрикса подтверждена сохранность архитектоники и основных белков, а также выявлены функциональные свойства матрикса.
5. Показано, что жизнеспособные островки Лангерганса, культивируемые в присутствии тканеспецифического матрикса, наблюдаются вплоть до 14 суток по сравнению с островками, культивируемыми с биополимерным коллагенсодержащим матриксом (10 суток).
6. Для экспериментальных моделей тканевых эквивалентов поджелудочной железы установлено существенное увеличение базальной и

стимулированной (под нагрузкой глюкозой) концентрации инсулина и пролонгирование инсулинпродуцирующей функции по сравнению с монокультурой островков Лангерганса *in vitro*. Показано преимущество применения тканеспецифического матрикса для создания тканевых эквивалентов поджелудочной железы по сравнению с биополимерным коллагенсодержащим матриксом.

Практические рекомендации

1. Модифицированный способ выделения островков Лангерганса из ткани поджелудочной железы крысы дает возможность получить значительное количество жизнеспособных и функционально активных изолированных островков.
2. Биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогелевый матрикс может быть использован в качестве компонента при создании тканевого эквивалента различных тканей и органов.
3. При создании тканевого эквивалента поджелудочной железы следует учитывать преимущество применения тканеспецифического матрикса по сравнению с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гидрогелевым матриксом.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Скалецкий Н.Н. Выявление островкового потенциала донорской поджелудочной железы с использованием иммуноморфологического анализа / Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Г.Н. Бубенцова, **Н.В. Баранова**, Г.Н. Скалецкая, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – № 1. – С. 32–37.
2. Кирсанова Л.А. Сравнительный морфологический анализ изолированных островков поджелудочной железы крысы, культивируемых в стандартных условиях и с биополимерным микрогетерогенным коллагенсодержащим гелем / Л.А. Кирсанова, **Н.В. Баранова**, Г.Н. Бубенцова, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – № 2. – С. 90–97.
3. Изучение влияния микрогетерогенного коллагенсодержащего матрикса на жизнеспособность изолированных панкреатических островков крысы в условиях *in vitro* / **Баранова Н.В.**, Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., Севастьянов В.И. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Материалы III Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов». – 2–4 октября 2017. – Т. XIX. – С. 203.
4. Имплантация тканеинженерной конструкции поджелудочной железы крысам с экспериментальным сахарным диабетом / Скалецкая Г.Н., Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., **Баранова Н.В.**, Скалецкий Н.Н., Севастьянов В.И. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Матери-

- алы III Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов». – 2–4 октября 2017. – Т. XIX. – С. 204.
5. Микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогель как матрикс для изолированных островков Лангерганса поджелудочной железы крысы / **Баранова Н.В.**, Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., Севастьянов В.И. // Гены & клетки. – Материалы III Национального конгресса по регенеративной медицине. – 2017. – Т. XII. – № 3. – С. 38–39.
 6. Имплантация тканеинженерной конструкции поджелудочной железы крысам с экспериментальным сахарным диабетом / Скалецкая Г.Н., Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., **Баранова Н.В.**, Скалецкий Н.Н., Севастьянов В.И. // Гены & клетки. – 2017. – Т. XII. – № 3. – С. 225.
 7. Скалецкий Н.Н. Культуры островковых клеток как компонент тканеинженерной конструкции поджелудочной железы / Н.Н. Скалецкий, Г.Н. Скалецкая, Л.А. Кирсанова, **Н.В. Баранова**, Г.Н. Бубенцова, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – № 2. – С. 74–81.
 8. Выделение островков Лангерганса из фрагмента хвостовой части поджелудочной железы человека / Пономарева А.С., **Баранова Н.В.**, Милосердов И.А., Севастьянов В.И. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Материалы IX Всероссийского съезда трансплантологов. – Москва, 17–19 сентября 2018. – С. 147.
 9. Формирование тканеинженерной конструкции поджелудочной железы крысы на основе микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогеля и островков Лангерганса / **Баранова Н.В.**, Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., Севастьянов В.И. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – Материалы IX Всероссийского съезда трансплантологов. – Москва, 17–19 сентября 2018. – С. 148.
 10. Баранова Н.В. Роль мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крысы в жизнеспособности островков Лангерганса крысы при совместном культивировании с микрогетерогенным коллагенсодержащим гелем / **Н.В. Баранова**, Л.А. Кирсанова, З.З. Гоникова, А.С. Пономарева, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – № 3. – С. 54–63.
 11. Пономарева А.С. Методика выделения жизнеспособных островков Лангерганса из фрагмента хвостовой части поджелудочной железы человека / А.С. Пономарева, Л.А. Кирсанова, **Н.В. Баранова**, Г.Н. Бубенцова, И.А. Милосердов, Е.А. Волкова, В.И. Севастьянов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2018. – № 4. – С. 76–82.
 12. Сравнительный анализ влияния биополимерного гидрогелевого и тканеспецифического матриксов на функциональную способность изолированных островков Лангерганса / **Баранова Н.В.**, Кирсанова Л.А., Пономарева А.С., Немец Е.А., Севастьянов В.И. // Гены & клетки. – Материалы IV Национального конгресса по регенеративной медицине. – 2019. – Т. XIV, Приложение. – С. 35.

13. Баранова Н.В. Сравнительный анализ секреторной способности островков Лангерганса, культивированных с биополимерным 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. – № 4. – С. 45–53.
14. 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. – № 1. – С. 123–133.

Список основных сокращений

СД 1	– сахарный диабет 1-го типа
ОЛ	– островки Лангерганса
ПЖ	– поджелудочная железа
ВКМ	– внеклеточный матрикс
ИПК	– инсулинпродуцирующие клетки
ТИК ПЖ	– тканеинженерная конструкция поджелудочной железы
ТЭ ПЖ	– тканевой эквивалент поджелудочной железы
МСК КМ	– мезенхимальные стромальные клетки костного мозга
БМКГ матрикс	– биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогелевый матрикс
ДПЖ матрикс	– матрикс из децеллюляризованной поджелудочной железы
ПАВ	– поверхностно-активные вещества
SDS	– додецилсульфат натрия
PBS	– фосфатно-солевой буфер
АО/PI	– акридиновый оранжевый и пропидиум иодид
ИФА	– иммуноферментный анализ

На правах рукописи

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ МАЛОГО ДИАМЕТРА, МОДИФИЦИРОВАННЫХ RGD-ПЕПТИДАМИ

Сенокосова Е.А., Антонова Л.В.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»

В 2018 году в Российской Федерации сердечно-сосудистые заболевания стали причиной смерти более 855 тысяч человек [Бокерия Л.А. и др., 2019]. Безусловное лидерство среди сердечно-сосудистых заболеваний за атеросклерозом [World health statistics, 2017]. При разрастании атероматозной бляшки происходит сужение просвета кровеносного сосуда с угрозой полной окклюзии [Cahill P.A. et al., 2016; Gimbrone M.A. et al., 2016; Yurdagul A.J. et al., 2016]. Одним из эффективных методов восстановления кровотока в обход окклюзивного участка является создание «обходного шунта» при помощи сосудистых протезов [Соловьев Г.М. и др., 2000; Магомедов А.А., 2011]. В современной сердечно-сосудистой хирургии к стандарту сосудозамещающего протеза малого диаметра ($D < 6$ мм) относятся аутоартерии и аутоветны. Но по разным причинам они не всегда доступны для трансплантации. Эффективный сосудистый протез малого диаметра до сих пор не создан, поэтому решение данной проблемы по-прежнему очень актуально.

Разработка альтернативных тканеинженерных функционально активных сосудистых протезов заключается в создании универсальной искусственной биосовместимой и биомиметической матрицы наподобие естественного внеклеточного матрикса, способной рассасываться со временем, а на своей основе стимулировать формирование новообразованной сосудистой ткани, то есть, нового здорового сосуда. Для изготовления биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра используются различные полимеры: полигликолевая кислота, полимолочная кислота, поликапролактон и другие [Антонова Л.В. и др., 2015; Sugiura T. et al., 2017; Xu F. et al., 2020].

Малый диаметр кровеносных сосудов предполагает снижение скорости кровотока, что обуславливает риск тромбообразования. Поэтому скорейшая эндотелизация внутренней поверхности искусственного сосудистого протеза на ранних сроках имплантации способна обеспечить тромборезистентность и долгосрочную проходимость протеза [Li H. et al., 2002; Bae C.R. et al., 2017]. Одним из перспективных направлений по праву можно считать модифицирование сосудистых протезов с целью управления поведением клеток [Ren X. et al., 2015]. Именно от способа модифицирования поверхности полимерных матриц зависит направление и эффективность управления клеточным поведением в зоне локализации создаваемых имплантов в условиях организма [Севастьянов В.И. и др., 2011; Chen L. et al., 2016]. Стратегия по скорейшему созданию на внутренней поверхности имплантированного протеза эндотелиального монослоя, аналогичного нативному сосуду, призвана снизить риск тромбообразования и стать залогом долгосрочного функционирования в организме [Talacua H. et al., 2015; Hsia K. et al., 2016]. Для этого необходимо привлечение на пористую внутреннюю поверхность сосудистого протеза эндотелиальных клеток: циркулирующих в кровотоке прогениторных либо зрелых эндотелиальных клеток, способных к миграции из зон анастомозов. Для селективной адгезии именно эндотелиальных клеток необходимо наличие специфичных сайтов клеточной адгезии на внутренней поверхности сосудистого протеза [Harburger D.S. et al., 2009; Ren X. et al., 2015].

Анализ литературных данных показывает эффективность применения RGD-пептидов для модифицирования поверхности биоматериалов, контактирующих с кровью. Однако отсутствие сравнительного исследования нескольких конфигураций адгезивных молекул в рамках одного исследования не позволяет выделить наиболее тропный адгезивный пептид для эндотелиальных клеток. А наличие факта, что линкерная группа, через которую биомолекулы связывается с поверхностью материалов, влияет на их биодоступность свидетельствует о важности проведения сравнения также разных по протяженности линкеров. В представленной работе проведено комплексное исследование разработанных модифицированных биodeградируемых сосудистых протезов с разными RGD-пептидами, сопряженными с линкерами разной протяженности.

Степень разработанности темы исследования

Большой научный интерес вызывает поверхностное модифицирование полимерных сосудистых протезов путем иммобилизации на поверхность функционально активных пептидов, способных селективно адгезировать эндотелиальные клетки из системного кровотока реципиента [Ren X. et al., 2015]. К данным пептидам относится аминокислотная последователь-

ность аргинил-глицил-аспарагиновая кислота (RGD), присутствующая у большинства белков природного экстрацеллюлярного матрикса [Wang F. et al., 2013]. Трипептид RGD является одним из ключевых лигандов для интегринов – рецепторов, которые ответственны за клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживание [Harburger D.S. et al., 2009]. Возможности современных физико-химических методов синтеза позволяют получить различные конфигурации RGD-пептидов с прогнозируемыми свойствами. Сшивание адгезивной молекулы с полимерной поверхностью происходит через связывающую молекулу – линкерную группу (линкер). Линкер также может быть природного или синтетического происхождения, различной молекулярной протяженности, сопряженной с биодоступностью RGD-пептида, что еще больше увеличивает количество изучаемых комбинаций «линкер – RGD-пептид».

Проведенные в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» серии исследований по разработке технологии изготовления и модифицирования биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра показали принципиальную возможность получения сосудистых протезов, модифицированных RGD-пептидами. Однако нерешенным остается вопрос наиболее выигрышной конфигурации адгезивной молекулы и линкера, через который адгезивный пептид будет иммобилизован на полимерную поверхность и станет максимально биодоступен для циркулирующих в кровотоке эндотелиальных клеток. Поэтому именно развернутое сравнительное исследование нескольких комбинаций «RGD-пептид + линкер» представляет собой наиболее целесообразное решение для определения оптимального вида модифицирования, что и послужило основанием для выполнения настоящей работы.

Цель исследования

Разработка биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра, модифицированных различными конфигурациями RGD-пептидов с использованием линкеров различного химического состава, и исследование свойств разработанных протезов в эксперименте.

Задачи исследования

1. Разработать методику модифицирования поверхности полимерных сосудистых протезов малого диаметра из композиции полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона с использованием RGD-пептидов различной конфигурации, присоединяемых к полимерной поверхности линкерами различной протяженности.

2. Провести сравнительный анализ структурных, физико-механических и гемосовместимых свойств биodeградируемых сосудистых протезов до и после модифицирования их поверхности RGD-пептидами.
3. В клеточных экспериментах *in vitro* оценить активность и биодоступность RGD-пептидов относительно различных типов эндотелиальных клеток человека.
4. В сравнительном аспекте *in vivo* оценить проходимость и особенности формирования новообразованной сосудистой ткани на месте имплантированных биodeградируемых сосудистых полигидроксибутират/валерат/поликапролактон-протезов с RGD-пептидами и без таковых, а также выраженность воспаления и кальцификации стенки протезов в зависимости от способа проведенного модифицирования.

Научная новизна исследования

1. Впервые проведено комплексное сравнительное исследование эффективности и биодоступности различных конфигураций RGD-пептидов, иммобилизованных к полимерной поверхности через различные по химическому составу и длине линкерные группы.
2. Впервые доказана роль синергичного влияния конфигурации RGD-пептида и длины линкерной группы в обеспечении эффективного привлечения и удержания эндотелиальных клеток на полимерной поверхности с сохранением клеточной жизнеспособности.
3. Впервые разработан биodeградируемый сосудистый протез малого диаметра с поверхностным модифицированием, оптимальным в плане воссоздания эндотелиального монослоя.

Практическая значимость исследования

Определение наиболее биосовместимого вида биodeградируемого сосудистого протеза на основе сочетания полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона, модифицированного RGD-пептидами, явится основой для создания, усовершенствования и дальнейших разработок эффективных функционально активных универсальных бесклеточных сосудистых протезов малого диаметра, а также других материалов медицинского назначения, которые требуют скорейшей эндотелизации поверхности, контактирующей с кровью.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационного исследования явились труды отечественных и зарубежных авторов в области разработок ткане-

инженерных сосудистых протезов малого диаметра. Для решения поставленных задач использован комплекс физико-химических, микроскопических, культуральных, гистологических, иммуногистохимических и биологических методов исследования:

1. Метод электроспиннинга.
2. Методы модифицирования полимерной поверхности сосудистых протезов с проверкой качества проведенного модифицирования.
3. Метод тонкослойной хроматографии.
4. Методы оценки физико-механических свойств протезов.
5. Метод сканирующей электронной микроскопии.
6. Метод световой, флуоресцентной и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии.
7. Культуральные методы исследования.
8. Метод проточной цитометрии.
9. Имплантация сосудистых протезов лабораторным животным.
10. Метод ультразвукового исследования.
11. Методы гистологического исследования.
12. Иммуноферментный анализ.
13. Метод иммунофлуоресцентного исследования.
14. Методы статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная методика модифицирования поверхности полимерных сосудистых протезов малого диаметра из композиции полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона с использованием RGDK, AhRGD и с[RGDFK], иммобилизованных линкером 1,6-гексаметилендиамин в течение 60 минут, а линкером 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин – в течение 30 минут, обеспечивает максимальное количество прикрепленных к полимерной поверхности аминокислот.
2. Модифицирование RGD-пептидами поверхности полимерных сосудистых протезов из полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона не меняет структуры их поверхности. Протезы с RGD-пептидами различной конфигурации, прикрепленными через линкер 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, отличаются высокой гемосовместимостью и физико-механическими характеристиками, более приближенными к таковым свойствам нативных сосудов.
3. Использование для модифицирования полимерной поверхности комбинации «пептид с[RGDFK] + линкер 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин» оптимально улучшает матричные свойства поверхности сосудистых протезов на основе полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона, повышая адгезию, жизнеспособность

и пролиферативную активность различных типов культивируемых эндотелиальных клеток.

4. Модифицирование поверхности сосудистых протезов из полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона комбинацией «пептид c[RGDFK] + линкер 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин» обеспечивает раннюю эндотелизацию внутренней поверхности, сбалансированное формирование элементов новообразованной сосудистой ткани и меньшую склонность к кальцификации стенки сосудистых протезов, имплантированных в аорту крыс.

Степень достоверности и апробация результатов

Достаточное количество экспериментальных наблюдений, дизайн исследования, использование высокоинформативных и современных методик, комплексный подход к научному анализу с применением современных методов статистической обработки и программного компьютерного обеспечения может свидетельствовать о высокой достоверности выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе. Выводы, представленные в настоящей работе, не получили критических замечаний и были опубликованы в рецензируемых изданиях.

Апробация работы состоялась 13 мая 2020 года на заседании проблемной комиссии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» в присутствии сотрудников клинических, экспериментальных отделов и лабораторий института.

Основные положения работы доложены и обсуждены на следующих конференциях: форум с международным участием «Биомедицина 2016» (Новосибирск, 2016); 4th International Conference on Nanotechnology in Medicine (Варшава, 2016); Международная научно-практическая конференция молодых ученых и студентов «Проблемы медицины и биологии» (Кемерово, 2019); II Молодежный международный конгресс «Современные материалы и технологии новых поколений» (Томск, 2019); IV Российский национальный конгресс с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019); OpenBio-2019 (Новосибирск, 2019); IV Национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, 2019).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты работы внедрены в исследовательскую деятельность отдела экспериментальной медицины Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», а также

используются в учебном процессе кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Материалы и методы исследования

Для пилотного этапа изготовлены 2 вида полимерных сосудистых протезов: из 14% раствора поликапролактона (Sigma-Aldrich) в хлороформе методом электроспиннинга на установке Nanon-01A (MECC, Япония) в следующем режиме: напряжение – 15 кВ, скорость подачи раствора – 0,5 мл/ч, расстояние до коллектора – 15,0 см, игла – 22G. Модифицирование внутренней поверхности проводили, используя RGD-пептид (LA-GRGDG-Ah), иммобилизованный через линкер – этилендиамин. В основном исследовании сосудистые протезы из композиции полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона изготовлены методом электроспиннинга на том же приборе из смеси полимеров 5 w/v % полигидроксibuтирата/валерата (Sigma-Aldrich) и 10 w/v % поликапролактона (Sigma-Aldrich) в трихлорметане в следующем режиме: напряжение – 20 кВ, скорость подачи раствора – 0,5 мл/ч, скорость вращения коллектора – 200 об/мин, расстояние до коллектора составило 15,0 см, игла – 22G. На первом этапе модифицирования на полимерную поверхность был прикреплен один из линкеров (Sigma-Aldrich): 1,6-гексаметилендиамин или 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин. Аминолиз внутренней поверхности протезов проводили при их помещении в 10% раствор одного из аминов в смеси изопропанол/вода в соотношении 1 : 1 при 37 °C в течение 10, 30 или 60 мин. На втором этапе осуществляли иммобилизацию одного из следующих RGD-пептидов – RGDK, AhRGD, c[RGDFK]. После аминoлиза образцы обрабатывали 2% раствором глутарового альдегида (Sigma-Aldrich) и помещали в раствор 0,2 мг/мл одного из пептидов.

Оценку качества модифицирования проводили по определению на поверхности количества аминогрупп и наличия аргинин-содержащего пептида. Проведена сканирующая электронная микроскопия внутренней поверхности протезов до и после модифицирования на сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-3400N (Hitachi, Япония). Механические свойства исследуемых полимерных протезов оценивали в условиях одноосного растяжения образцов, в соответствии с ГОСТ 270-75 на универсальной испытательной машине «Zwick/roell»-2.5N (Zwick GmbH & Co. KG, Germany). Исследование гемосовместимости протезов до и после модифицирования проводили согласно стандарту ISO 10993.4. На поверхности матриц с RGD-пептидами и без таковых проведено культивирование эндотелиальных клеток пупочной вены человека. Аб-

солютное количество клеток на 1 мм² поверхности и относительное содержание погибших клеток оценивали с помощью методов флуоресцентной микроскопии. С этой целью предварительно окрашивали клетки на матриксах ядерными красителями этидиумом бромидом (Sigma-Aldrich, США) 0,03 мг/мл и Hoechst 33342 (Sigma Aldrich, США) 2 мкг/мл. Флуоресцентная микроскопия выполнена на инвертированном микроскопе Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Германия). Культивирование колониеформирующих эндотелиальных клеток человека на поверхности матриксов сопровождалась последующей флуоресцентной, а также сканирующей электронной микроскопией поверхности матриксов.

На пилотном этапе исследования сосудистые протезы полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD (n = 4) и поликапролактон-RGD (n = 4) диаметром 2,0 мм и длиной 10,0 мм имплантировали сосудистое русло лабораторных крыс сроком на 12 месяцев. В качестве контроля выступили немодифицированные сосудистые протезы аналогичного полимерного состава (n = 4). В основном исследовании полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-протезы диаметром 1,5 мм и длиной 10,0 мм имплантировали в брюшную аорту крысы на период в 1 и 3 месяца. На каждую контрольную точку (1 и 3 месяца) было по 6 наблюдений: немодифицированные протезы (n = 12); модифицированные разными сочетаниями «пептид + линкер»: RGDK + 1,6-гексаметилендиамин (n = 12), AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин (n = 12), c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин (n = 12), RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (n = 12), AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (n = 12); c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (n = 12).

Гистологическое исследование эксплантированных протезов – окрашивание образцов гематоксилин-эозином, по Ван-Гизону и ализарином красным С. Элементный состав кальцификатов определен методом электронно-зондового микроанализа с помощью энергодисперсионного спектрометра XFlash 4010 (Bruker, Германия), входящего в состав сканирующего электронного микроскопа S-3400N (Hitachi, Япония). Элементный анализ выполнен в условиях низкого вакуума: давление в камере микроскопа 20 Па, ускоряющее напряжение 15 kV, в режиме обратно-рассеянных электронов. Подбор режимов для анализа произведен в соответствии с ГОСТ Р ИСО 22309-2015.

Микросрезы замороженных эксплантированных образцов толщиной 8 мкм изготавливали с использованием криотома Microm HM Cryostat 525 (Thermo Scientific, США) и помещали на стеклах с поли-L-лизинном. Иммунофлуоресцентное окрашивание срезов проводили с использованием первичных антител: антитела мыши к CD 31⁺ крысы (ab119339, Abcam), антитела кролика к CD 34⁺ крысы (ab185732, Abcam), антитела мыши к коллагену I крысы (ab28028, Abcam), антитела кролика к коллагену IV

крысы (ab6586, Abcam), а также антитела к фактору фон Виллебранда (ab8822, Abcam).

Статистическая обработка полученных данных выполнена в программах «Statistica 6» (StatSoft Inc., США) и GraphPad Prism (GraphPad Software). Статистическую значимость различий между двумя независимыми группами оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. При сравнении трех и более независимых групп использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса. При множественных сравнениях применялась поправка Бонферрони, критерии Данна и Тьюки. Различия между исследуемыми группами принимались за статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Итоги пилотного этапа исследования

В данной диссертационной работе представлены результаты пилотного и основного этапа исследования. В пилотном этапе фигурировали поликапролактон- и полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-протезы, модифицированные RGD-пептидом (LA-GRGDG-Ah), иммобилизованным к полимерной поверхности через линкер – этилендиамин. Проведена оценка качества модифицирования, изучены физико-механические свойства и биосовместимость *in vitro* и *in vivo*.

Оценка качества модифицирования сосудистых протезов

Для определения качества модифицирования поликапролактон-RGD и полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD сосудистых протезов в качестве групп сравнения были выбраны немодифицированные протезы аналогичного полимерного состава и протезы, имеющие на поверхности только линкерную группу: поликапролактон-этилендиамин и полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-этилендиамин.

Методы колориметрической оценки исследуемых образцов показали успешное прикрепление как линкера к полимерной поверхности, так и иммобилизацию RGD-пептида. Окраска оранжевым II показала статистически значимую ($p < 0,05$) разницу между модифицированными образцами и немодифицированными аналогами: количество высвобожденного красителя после связывания с аминоклруппами было ожидаемо выше у модифицированных образцов (рис. 1, а). Данные по нингидриновому тесту аналогичны окрашиванию оранжевым II: установлено наличие аминоклрупп на поверхности образцов, модифицированных только этилендиамином, и образцов с RGD-пептидом (рис. 1, б). Концентрация аминоклрупп была максимальной на поверхностях полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD ($14,9 \pm 2,9$ мкМ/мм²) и полигидроксibu-

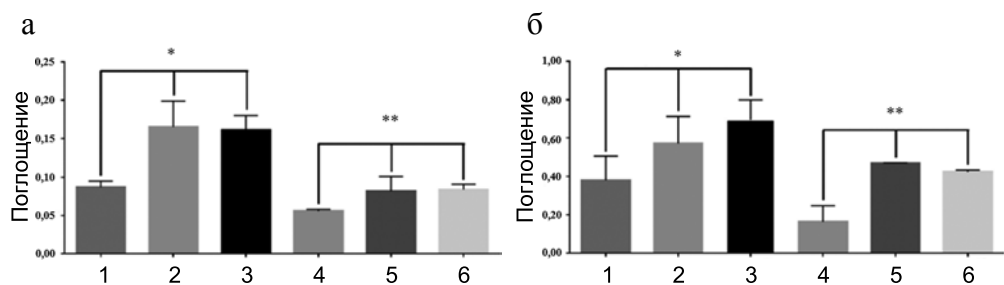


Рис. 1. Результаты спектроскопии: а – окраска оранжевым II; б – нингидриновый тест; 1 – полигидроксибутират/валерат/поликапролактон; 2 – полигидроксибутират/валерат/поликапролактон-этилендиамин; 3 – полигидроксибутират/валерат/поликапролактон-RGD; 4 – поликапролактон; 5 – поликапролактон-этилендиамин; 6 – поликапролактон-RGD. * – $p < 0,05$ в сравнении с полигидроксибутиратом/валератом/поликапролактоном; ** – $p < 0,05$ в сравнении с поликапролактоном

тират/валерат/поликапролактон-этилендиамин ($14,5 \pm 0,5$ мкМ/мм²) при двукратно меньших концентрациях на образцах из поликапролактона ($7,55 \pm 0,2$ мкМ/мм²).

Метод тонкослойной хроматографии продемонстрировал наличие аргинина и аспарагиновой кислоты на RGD-поверхностях. Процедура модифицирования полимерных протезов RGD-пептидом прошла успешно (рис. 2).

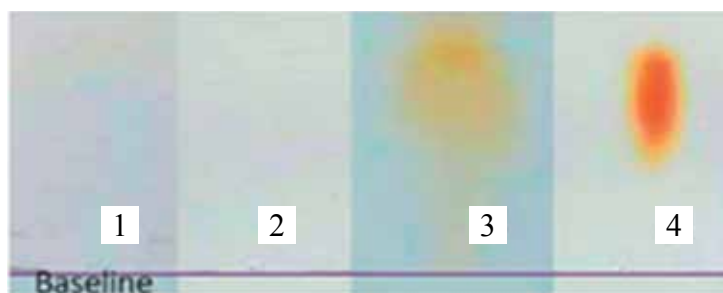


Рис. 2. Результаты тонкослойной хроматографии: 1 – немодифицированный матрикс; 2 – полимер-этилендиамин; 3 – полимер-RGD; 4 – аргинин/аспарагиновая кислота

Сканирующая электронная микроскопия внутренней поверхности полимерных протезов после модифицирования, продемонстрировала сохранность ее организации: толщина микронитей, размер пор между ними остались неизменными (рис. 3).

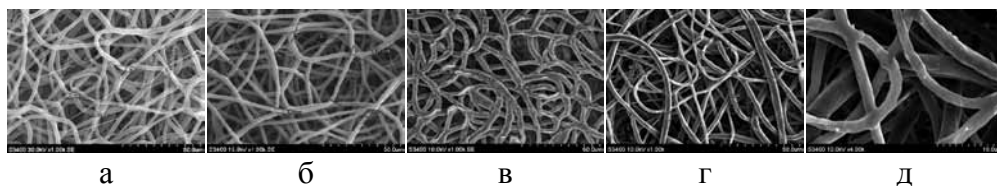


Рис. 3. Сканирующая электронная микроскопия поверхности матриц с RGD-пептидами и без таковых: а – поликапролактон, б – полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон, в – поликапролактон-RGD, г – полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD ($\times 1000$); д – полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD ($\times 4000$)

Физико-механические характеристики сосудистых протезов до и после RGD-модифицирования

Вследствие иммобилизации LA-GRGDG-Ah на внутреннюю поверхность протезов их физико-механические параметры статистически значительно снизились в сравнении с немодифицированными аналогами. Эластичность материала снизилась в 2,45 ($p = 0,0008$) и 1,36 раза ($p = 0,0008$) соответственно. Однако жесткость конечных изделий увеличилась: для образцов из поликапролактона в 4,025 раза ($p = 0,0008$), для полигидроксibuтират/валерат/поликапролактона – в 1,56 раза ($p = 0,12$). Максимальное напряжение поликапролактон-RGD-образцов ниже в 4,67 раза, в группе полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD ниже в 3,77 в сравнении с аутовенами ($p = 0,0008$). Протезы из полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD более приближены к физико-механическим к свойствам нативных сосудов в сравнении с поликапролактон-RGD (табл. 1).

Культивирование эндотелиальных клеток пупочной вены человека на матриксах разного полимерного состава с RGD-пептидами и без таковых

После 6 суток культивирования эндотелиальных клеток на исследуемых видах матриц отмечено большое количество клеток на 1 мм^2 на полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD-матриксе – 97 [78; 127], на поликапролактон-RGD – 79 [55; 119], что практически в 9 раз статистически значимо выше аналогичного показателя на немодифицированных аналогах. Доля мертвых клеток на полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD-матриксах к концу срока инкубации клеток статистически значимо выше относительно поликапролактон-RGD, возможно, это было связано с несколько превышающей пролиферативной активностью эндотелиальных клеток на полигидроксibuтират/валерат/

Таблица 1

Физико-механические свойства полимерных сосудистых протезов до и после модифицирования RGD-пептидом, Ме [25; 75]

Образцы	Напряжение, МПа	Относительное удлинение, %	Е _{мод} , МПа
Грудная артерия	2,48 [1,09; 3,25]	29,86 [25,5; 41,6]	2,34 [1,53; 2,95]
Аутовена	10,09 [8,05; 12,13] ^{&}	73,1 [62,8; 81,8]	1,37 [0,89; 1,75]
Поликапролактон	3,72 [3,35; 4,51]	779,92 [743,35; 802,31] ^{&}	4,025 [3,52; 5,71] ^{&}
Поликапролактон-RGD	2,16 [1,76; 2,56] ^{* #}	318,04 [189,88; 347,1] ^{* # &}	16,2 [12,8; 16,9] ^{* # &}
Полигидроксibuтират/ валерат/поликапролактон	7,05 [5,58; 8,02] ^{&}	431,33 [397,3; 574,55] ^{&}	28,0 [22,0; 32,9] ^{&}
Полигидроксibuтират/ валерат/ поликапролактон-RGD	2,67 [2,0; 2,97] ^{** #}	316,02 [71,18; 341,92] ^{** &}	43,6 [33,45; 47,95] ^{\$ # &}

Примечание. * – $p < 0,05$, в сравнении с поликапролактоном; ** – $p < 0,05$, в сравнении с полигидроксibuтиратом/валератом/поликапролактоном; \$ – $p < 0,05$, в сравнении с поликапролактоном; # – $p < 0,001$, в сравнении с аутовеной; & – $p < 0,05$, в сравнении с грудной артерией.

поликапролактон-RGD: в среднем, на 18 клеток больше на площадь в 1 мм² в сравнении с поликапролактон-RGD.

Результаты имплантации модифицированных сосудистых протезов из разных полимерных основ в аорту крыс

Все крысы дожили до срока вывода из эксперимента, равного 12 месяцам. Проходимость всех немодифицированных протезов составила 75%. При оценке результатов гистологического исследования эксплантационных немодифицированных образцов сосудистых полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-протезов в 50% случаев обнаружен пристеночный тромб, перекрывавший большую часть просвета протезов. Модифицированные полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD-протезы были более тромборезистентными, частота тромбообразования к концу эксперимента составляла 25%. Иммунофлуоресцентное окрашивание эксплантационных образцов показало сформированный непрерывный эндотелиальный монослой, состоящий из эндотелиальных клеток, на внутренней полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD-поверхности. При этом на поликапролактон-RGD-поверхности обнаружена только прерывистая эндотелиальная выстилка (рис. 4).

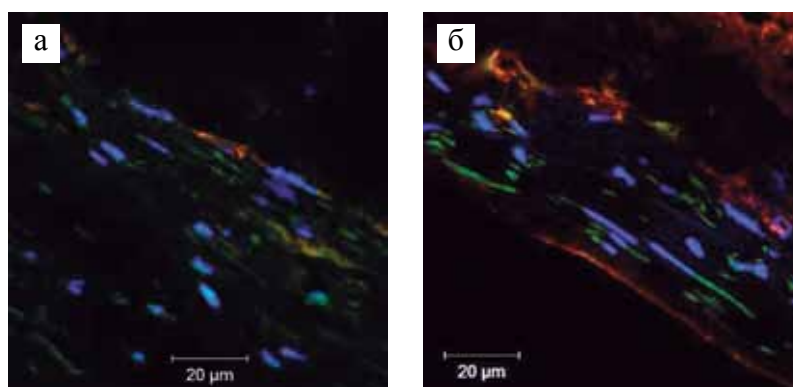


Рис. 4. Окрашивание эксплантированных полимерных сосудистых протезов флуоресцентными антителами: а – поликапролактон-RGD; б – полигидроксибутират/валерат/поликапролактон-RGD. $\times 630$.

Красное свечение – CD31⁺; зеленое свечение – CD34⁺; синее свечение – Dapi (ядра клеток)

Таким образом, результаты специфической флуоресцентной окраски демонстрируют простимулированное формирование и должное функционирование монослоя эндотелиальных клеток на внутренней поверхности протезов, модифицированных LA-GRGDG-Ah.

Полученные результаты позволили определить оптимальную полимерную композицию (полигидроксибутират/валерат/поликапролактон) для изготовления модифицированного пористого каркаса будущего сосудистого протеза методом электроспиннинга, способного в большей степени приблизиться к механическим свойствам нативной артерии и, в итоге, быть более биосовместимой. Также позволили оценить перспективность подхода RGD-модифицирования поверхности биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра и определить дальнейшие этапы исследования.

Итоги основного этапа исследования

Основное исследование сконцентрировано на сравнении нескольких конфигураций RGD-пептидов, иммобилизованных на полигидроксибутират/валерат/поликапролактон-поверхность через линкеры различного химического состава и протяженности. В основном исследовании рассмотрены RGD-пептиды разной конфигурации, главной особенностью которых является дополнительное наличие аминокислотного остатка лизина (K) или его аналога (аминокапроновая кислота, Ah): RGDK, AhRGD и c[RGDFK]. Для иммобилизации адгезивных пептидов использованы линкеры: «короткий» 1,6-гексаметилендиамин и более «протяженный» 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин.

Определение оптимального времени аминолита сосудистых протезов на основе композиции полигидроксибутирата/валерата и поликапролактона

Модифицирование сосудистых протезов осуществлялось в 2 этапа. На первом этапе – прививание одного из линкеров. Для установления наиболее подходящего времени аминолита было выбрано три временных отрезка воздействия на полимерную поверхность раствором, содержащим 1,6-гексаметилендиамин или 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин: 10, 30, 60 минут. При использовании линкера 1,6-гексаметилендиамин максимальное количество введенных аминокрупп было достигнуто через 60 минут обработки полимерной поверхности и составило $8,9 \times 10^{-9}$ моль/см². В случае с 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин максимальное количество аминокрупп было идентифицировано через 30 мин – $8,6 \times 10^{-9}$ моль/см² (табл. 2).

Таблица 2

Количество аминокрупп на полимерной поверхности протезов в зависимости от длительности первичного аминолита

Время	Количество аминокрупп, моль/см ²	
	1,6-гексаметилендиамин	4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин
10 мин	$5,1 \times 10^{-9}$	$5,8 \times 10^{-9}$
30 мин	$6,3 \times 10^{-9}$	$8,6 \times 10^{-9}$
60 мин	$8,9 \times 10^{-9}$	$8,1 \times 10^{-9}$

На основании проведенных экспериментов была выбрана продолжительность обработки для каждой линкерной группы: 60 минут для 1,6-гексаметилендиамина и 30 минут для 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина.

На 2 этапе проводили конъюгацию одного из RGD-пептидов с полимерной поверхностью посредством кросс-сшивающего реагента (глутаровый альдегид). В итоге было получено 6 разновидностей полимерных сосудистых протезов, имеющих отличия по структуре пептида, содержащего RGD-фрагмент, и длине линкерной группы, соединяющей поверхность полимерного каркаса с пептидными последовательностями: RGDK + 1,6-гексаметилендиамин; AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин; c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин; RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин.

Идентификация RGD-пептидов на полимерной поверхности проведена тестом Сакагучи. В процессе реакции гуанидиновой группы аргинина с раствором, содержащим бром, образцы принимали оранжево-красную окраску, которая не исчезала при отмывании, что свидетельствовало о ковалентной иммобилизации RGD-пептида.

Изображения сканирующей электронной микроскопии показали структурную сохранность поверхности после модифицирования. На нитях всех разновидностей модифицированных матриксов были обнаружены «выпуклости», отчетливо заметные при большем увеличении – $\times 4000$ (рис. 5). Данные «неровности», предположительно, являются RGD-пептидами.

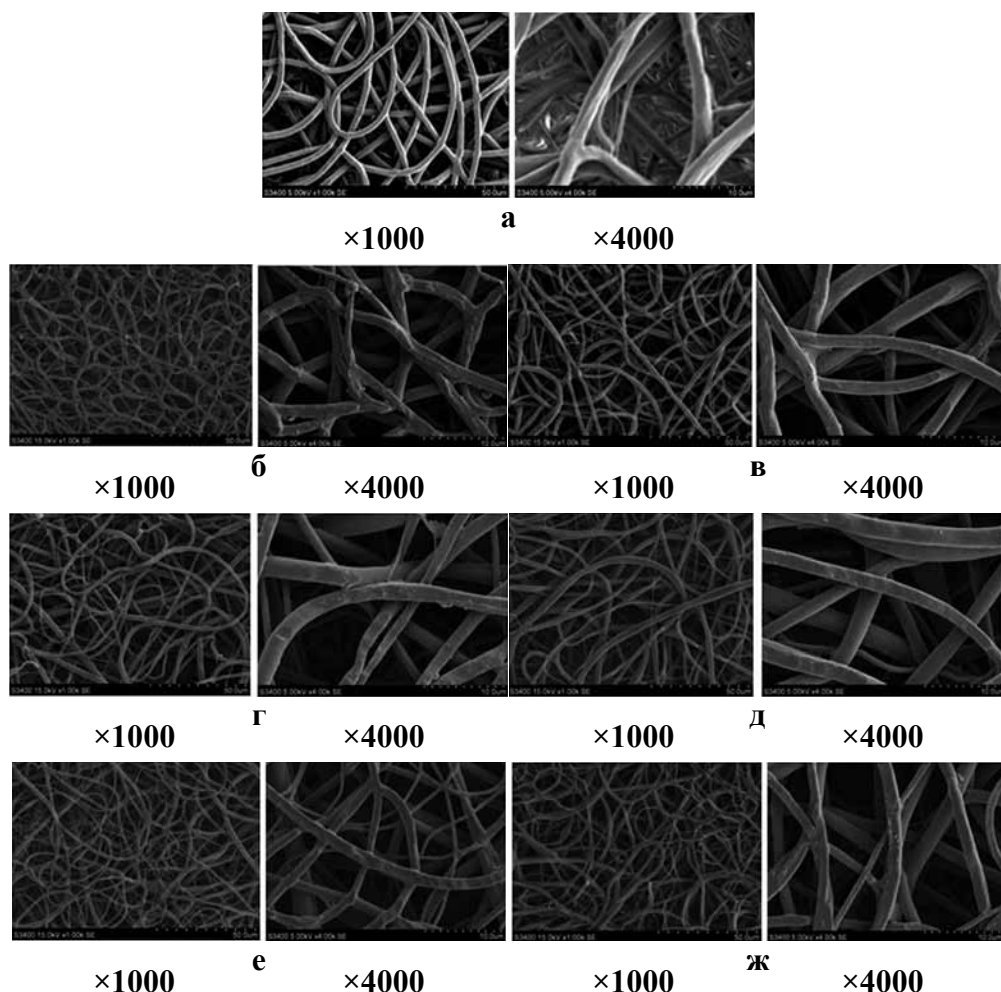


Рис. 5. Сканирующая электронная микроскопия поверхности нетканых матриксов с RGD-пептидами и без таковых: а – немодифицированный матрикс; б – RGDK + 1,6-гексаметилендиамин; в – RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; г – AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин; д – AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; е – c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин; ж – c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин

Таблица 3

Физико-механические свойства сосудистых протезов до и после модифицирования RGD-пептидами

Вид образца	n	Предел прочности, МПа Me [25; 75]	Сила, приложенная к образцу до начала разрушения, Н Me [25; 75]	Относительное удлинение, % Me [25; 75]	E _{мод} , МПа Me [25; 75]	Толщина, мм Me [25; 75]
Грудная артерия	6	2,48 [1,36; 3,25]	0,92 [0,59; 1,72]	29,72 [23,51; 39,62]	2,42 [1,87; 3,19]	0,27 [0,24; 0,30]
Протез без модифицирования	6	3,85 [2,88; 4,54]	3,05 [2,59; 3,34] [#]	102,7 [79,37; 106,3] [#]	21,8 [19,2; 25,2] [#]	0,38 [0,35; 0,46] [#]
RGDK + 1,6-гексаметилендиамин	6	1,29 [0,65; 1,42]*	1,49 [0,67; 1,59]*	127,39 [31,5; 135,52]	21,4 [10,2; 24,8] [#]	0,55 [0,49; 0,55]* [#]
AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин	6	0,81 [0,77; 1,1] [#]	0,69 [0,67; 1,15]*	83,76 [81,2; 132,8] [#]	11,8 [11,1; 17,5]* [#]	0,45 [0,45; 0,5] [#]
c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин	6	0,72 [0,45; 0,89]* [#]	0,64 [0,42; 0,9]*	84,0 [17,26; 99,83] [#]	8,11 [6,86; 12,4]* [#]	0,45 [0,44; 0,47] [#]
RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин	6	1,2 [1,14; 1,22]*	1,33 [1,29; 1,49]*	65,73 [65,03; 121,46] [#]	22,1 [21,5; 24,6] [#]	0,54 [0,53; 0,54]* [#]
AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин	6	1,21 [1,21; 1,23]*	1,26 [1,25; 1,27]*	109,93 [93,28; 127,23] [#]	22,9 [21,1; 23,1] [#]	0,49 [0,49; 0,53]* [#]
c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин	6	1,18 [1,03; 1,6] [#]	1,26 [1,13; 1,74]*	136,74 [84,43; 181,15] [#]	19,4 [18,6; 24,5] [#]	0,52 [0,49; 0,53]* [#]

Примечание. * – $p < 0,05$, в сравнении с немодифицированным протезом; [#] – $p < 0,05$, в сравнении с грудной артерией.

***Физико-механические характеристики протезов
на основе полигидроксibuтирата/валерата
и поликапролактона до и после RGD-модифицирования***

Жесткость полимерных протезов с 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином статистически значимо не отличалась от немодифицированных аналогов, что свидетельствует о более щадящем подходе модифицирования в течение 30 минут при сшивке 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина с полимерной поверхностью. На это же указывает и сохранность показателей относительного удлинения материала на исходном уровне. Модифицирование в течение 60 минут при сшивке 1,6-гексаметилендиамина с полимером привело к падению жесткости образца в 1,7 раза на фоне значимого снижения прочности. Относительное удлинение протезов с 1,6-гексаметилендиамином снизилось более значимо, чем у протезов с 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином. Тем не менее, как модифицированные, так и немодифицированные полимерные сосудистые протезы оказались жестче нативного сосуда почти в 9 раз (табл. 3).

***Гемосовместимость протезов на основе
полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона,
модифицированных RGD-пептидами в сравнении
с немодифицированными аналогами***

Степень гемолиза эритроцитов после контакта с поверхностью всех изучаемых разновидностей модифицированных и немодифицированных полимерных матриц не превысила 1%. Статистически значимое повышение максимума агрегации тромбоцитов ($p < 0,05$) наблюдали после контакта с поверхностью практически всех модифицированных образцов сосудистых протезов, который превысил 20% против 17,25 [16,3; 17,96] % максимума агрегации тромбоцитов на немодифицированных образцах. На поверхности протезов с 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином выявлены тромбоциты преимущественно II и III типа, что свидетельствовало о меньшей активации тромбоцитов при контакте с поверхностью протезов RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина, AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина и c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина (табл. 4).

Таким образом, тромборезистентность поверхности сосудистых протезов, модифицированных различными конфигурациями RGD-пептидов, с использованием линкера 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина оказалась выше, чем при использовании линкера 1,6-гексаметилендиамина.

Таблица 4

Индекс деформации тромбоцитов и процентное распределение типов тромбоцитов

Образец	Соотношение типов тромбоцитов, %					Индекс деформации М [25; 75]
	I	II	III	IV	V	
Без модифицирования	0	15,4	73,1	9,6	1,9	2,7 [1,0; 3,0]
RGDK + 1,6-гексаметилендиамин	5,6	36,1	25,0	30,6	2,8	2,5 [2,0; 3,0]
AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин	1,5	11,4	50,0	31,4	5,7	3,31 [3,0; 3,7]*
c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин	0,0	10,8	43,1	30,7	15,4	3,7 [3,4; 4,5]*
RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин	3,1	31,3	28,1	15,6	21,9	2,6 [1,0; 3,7]
AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин	0,0	65,5	24,2	3,4	6,9	1,3 [0,0; 2,2]
c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин	4,8	28,6	40,5	7,1	19,0	2,9 [2,5; 4,0]

Примечание. * – $p < 0,05$, в сравнении с немодифицированным матриксом.

Культивирование эндотелиальных клеток пупочной вены человека на немодифицированной и модифицированной поверхности полимерных матриксов

По количеству адгезированных эндотелиальных клеток пупочной вены человека на 1 мм² поверхности в порядке убывания матриксы расположились следующим образом: c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (70,6 [41,2; 79,4]) > AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин (64,7 [52,9; 94,1]) > c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин (58,8 [38,2; 132,4]) > RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (50,0 [44,1; 88,3]) > RGDK + 1,6-гексаметилендиамин (47,1 [20,6; 67,6]) > AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (41,0 [29,4; 100,0]). Статистически значимых различий по общему количеству клеток на площади в 1 мм² между группами не установлено. Основываясь на абсолютное количество погибших клеткам на исследуемой площади в 1 мм², модифицированные матриксы выстроились иначе: RGDK + 1,6-гексаметилендиамин (29,4 [14,7; 52,9]) > c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин (29,4 [17,6; 44,1]) > AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин (23,5 [11,8; 70,6]) > c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (23,5 [17,6; 29,4]) > AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (11,8 [0,0; 20,6]) > RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (5,9 [0,0;

32,4]) (рис. 6). Наибольшее относительное число пролиферирующих эндотелиальных клеток отмечено на матриксах RGDK + 1,6-гексаметилендиамин (10,0 [6,9; 12,5] %), с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин (10,7 [0,0; 20,0] %) и RGDK + 1,6-гексаметилендиамин (11,1 [7,1; 23,1] %).

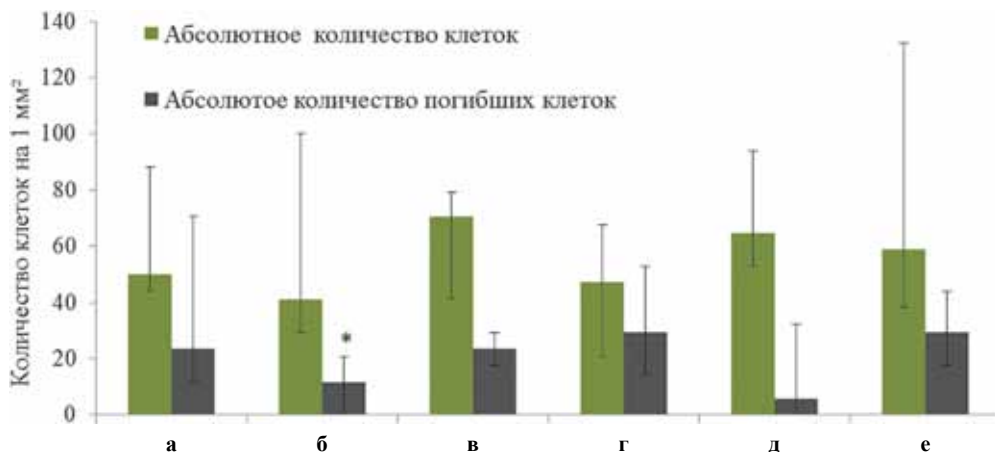


Рис. 6. Адгезия эндотелиальных клеток пупочной вены человека: а – RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; б – AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; в – с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; г – RGDK + 1,6-гексаметилендиамин; д – AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин; е – с[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин. * – $p < 0,05$ в сравнении с RGDK + 1,6-гексаметилендиамин и с[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин

Культивирование колониеформирующих эндотелиальных клеток на немодифицированной и модифицированной поверхности полимерных матриц

Общее количество колониеформирующих эндотелиальных клеток на модифицированном матриксе с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин было максимальным и составило 2682,4 [1917,7; 3141,2] клеток/мм² – более чем в 6 раз больше относительно других видов модифицирования ($p < 0,001$). Одновременно абсолютное количество погибших клеток на матриксе A2P3: 222,4 [111,8; 294,1] клеток/мм² было статистически значимо выше относительно других вариантов модифицирования и показателя на пластике, что ожидаемо при высоком количестве адгезированных клеток ($p < 0,001$) и ограниченной площадью для потенциального клеточного роста в условиях высокой пролиферативной активности клеточной культуры (рис. 7).

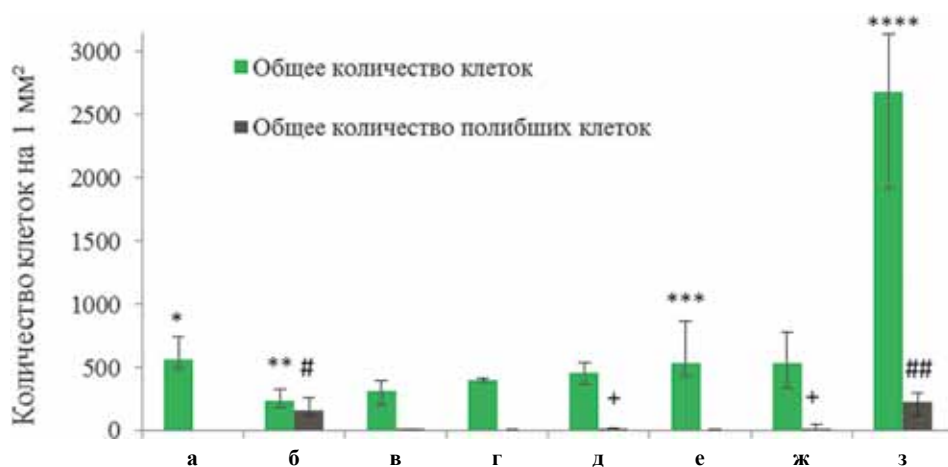


Рис. 7. Адгезия колониеформирующих эндотелиальных клеток человека: а – культуральный пластик; б – немодифицированный матрикс; в – RGDK + 1,6-гексаметилендиамин; г – AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин; д – с[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин; е – RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; ж – AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; з – с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин. * – $p < 0,05$ в сравнении с немодифицированным матриксом, RGDK + 1,6-гексаметилендиамин, AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин и с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; ** – $p < 0,05$ в сравнении с культуральным пластиком, RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, с[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин, RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; *** – $p < 0,05$ в сравнении с немодифицированным матриксом, RGDK + 1,6-гексаметилендиамин, AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин, с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; **** – $p < 0,05$ в сравнении с остальными группами; # – $p < 0,05$ в сравнении с остальными группами, кроме с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; ## – $p < 0,05$ в сравнении с остальными группами, кроме немодифицированного матрикса; + – $p < 0,05$ в сравнении с культуральным пластиком

Результаты имплантации биodeградируемых сосудистых протезов на основе полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона с RGD-пептидами и без таковых в аорту лабораторных крыс

Методы гистологической окраски продемонстрировали, что эксплантированные модифицированные сосудистые протезы, в частности

AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин, с[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин, RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, не имели признаков тромбообразования и сохранили проходимость спустя 3 месяца имплантации. Образцы RGDK + 1,6-гексаметилендиамин-протезы были проходимы лишь в 33,3% на всем протяжении эксперимента. При оценке динамики кальциноза стенки протезов было выделено 2 наилучших сочетания: RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин и с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин. Кальцификация спустя 1 месяц имплантации отсутствовала, а через 3 месяца выявлены очаги аморфно-кристаллического кальция под неоинтимой в 33,3% случаев. Кальцификация стенки протезов AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин выявлена на всех сроках имплантации в 50% случаев. Сосудистые протезы с линкером 1,6-гексаметилендиамин обладали высокой склонностью к кальцинозу: спустя 3 месяца имплантации выявляли отложения кальция в 50,0% случаев. Ремоделирование элементов новообразованной сосудистой ткани на месте RGD-протезов происходило однотипно: миграция фибробластов и макрофагов в толщу пористой стенки изделий проходила преимущественно с внешней стороны (табл. 5).

На внутренней поверхности протезов, модифицированных линкером 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, определена значительная степень эндотелизации уже через 1 месяц имплантации. Спустя 3 месяца данный эффект был особенно очевиден для образцов RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин и с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин: зарегистрирована высокая экспрессия CD31⁺, подтвердившая зрелый фенотип слоя эндотелиальных клеток (рис. 8).

Заключение

В пилотном исследовании была показана успешность RGD-модифицирования сосудистых протезов на основе поликапролактона и композиции полимеров полигидроксibuтирата/валерата/поликапролактона. По итогам *in vitro* и *in vivo* экспериментов более эффективными оказались полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-RGD-протезы: их внутренняя поверхность более благоприятна для эндотелиальных клеток. Однако изучены только 1 вид RGD-пептида (LA-GRGDG-Ah) и 1 линкер (этилендиамин), что не дало объективного мнения о биодоступности данного адгезивного пептида для эндотелиальных клеток. Поэтому стало необходимым углубление изучения темы RGD-модифицирования биodeградируемых сосудистых протезов на основе полимерной композиции полигидроксibuтирата/валерата/поликапролактона. В основном исследовании сосудистые протезы, модифицировали пептидами: RGDK, AhRGD или с[RGDFK]; линкерами: 1,6-гексаметилендиамин или 4,7,10-триокса-

Таблица 5

Гистологическая окраска модифицированных сосудистых протезов, эксплантированных через 1 и 3 месяца имплантации: гематоксилин и эозин (а), Ван-Гизон (б), ализариновый красный С (в)

Об-разцы	Срок имплантации					
	1 месяц			3 месяца		
1						
2						
3						
4						
5						
6						
	а	б	в	а	б	в
	×200	×400	×50	×200	×400	×50

Примечание. 1 – RGDK + 1,6-гексаметилендиамин; 2 – AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин; 3 – с[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин; 4 – RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; 5 – AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; 6 – с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин.

1,13-тридекандиамин. При оценке физико-механические свойств RGD-протезов установлено, что время проводимого модифицирования влияет на некоторые характеристики протезов: чем оно продолжительнее, тем больше снижалась прочность и эластичность материала. Высокая гемосовместимость модифицированной поверхности была у образцов с длинным линкером 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин, особенно в сочетании с RGDK, с[RGDFK]: данные поверхности в меньшей степени инициировали агрегацию тромбоцитов. Полученные *in vitro* результаты указали на функциональную активность всех RGD-пептидов на модели

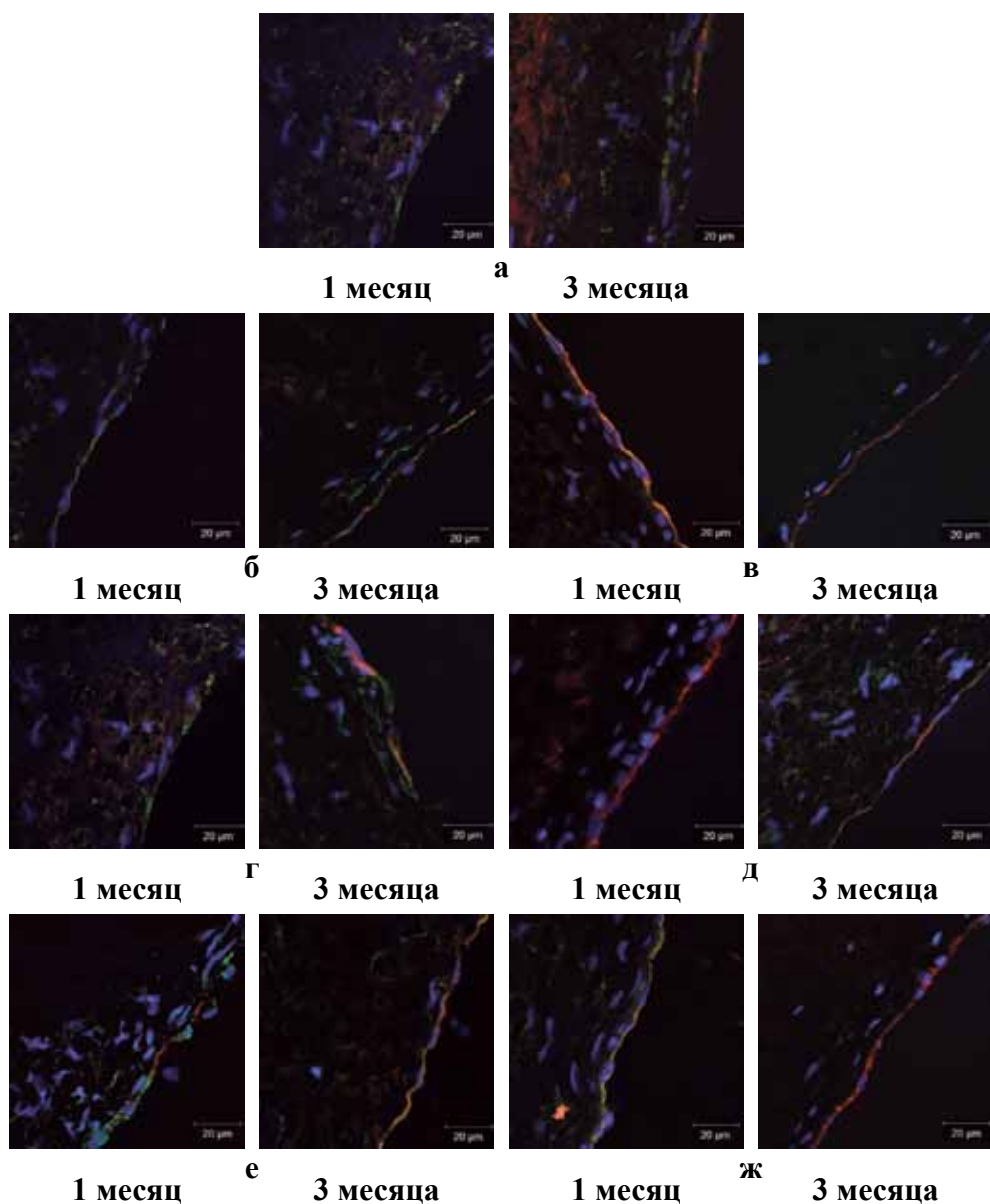


Рис. 8. Иммунофлуоресцентная окраска эксплантированных сосудистых протезов спустя 1 и 3 месяца имплантации:
а – немодифицированный матрикс; б – RGDK + 1,6-гексаметилендиамин; в – RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; г – AhRGD + 1,6-гексаметилендиамин; д – AhRGD + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин; е – c[RGDFK] + 1,6-гексаметилендиамин; ж – c[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин. ×630. Красное свечение – CD31⁺; зеленое свечение – CD34⁺; синее свечение – Dapi (ядра клеток)

культивирования эндотелиальных клеток пупочной вены человека на RGD-матриксах. Однако большая биодоступность и активность была у RGD-пептидов, связанных с полимерной поверхностью посредством 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина. Адгезия колониеформирующих эндотелиальных клеток на поверхности нетканого матрикса с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина в разы превосходила таковую на других матриксах, длина линкера значительно увеличила биодоступность сопряженного с ним с[RGDFK]. По результатам краткосрочной имплантации протезов в сосудистое русло крысам было определено, что при 100% проходимости всех модифицированных протезов такие варианты как RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина и с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина, демонстрировали лучшую регенерацию сосудистых тканей. Внутренняя поверхность протезов RGDK + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина и с[RGDFK] + 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина уже спустя 1 месяц имплантации имела сплошную эндотелиальную выстилку, к 3 месяцу состоявшую в основном из зрелых эндотелиальных клеток. Подобного эффекта не наблюдали при исследовании эксплантированных образцов с 1,6-гексаметилендиамином. Наибольшую частоту образования кальцификатов отмечали в образцах, модифицированных AhRGD. Пептид AhRGD также не способствовал улучшению биосовместимости сосудистых протезов. При этом сосудистые протезы с 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином в сочетании с RGDK и с[RGDFK] подвергались кальцификации в меньшей степени и в более отдаленный период: спустя 1 месяц имплантации кальцификаты не обнаружены, а к 3 месяцу только в 33,3% случаев. Совокупность результатов исследования демонстрирует пригодность модифицирования пептидами RGDK или с[RGDFK] в сочетании с линкером 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина поверхности полимерного материала изделий, контактирующих с кровью и требующих их скорейшей эндотелизации.

Выводы

1. Разработана методика модифицирования внутренней поверхности сосудистых протезов малого диаметра из композиции полимеров полигидроксипропирата/валерата и поликапролактона. Для достижения максимального количества прикрепленных аминокислот к полимерной поверхности (более $8,5 \times 10^{-9}$ моль/см²) оптимальное время воздействия 1,6-гексаметилендиамином составило 60 минут, а для 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамина – 30 минут.
2. Модифицирование поверхности полимерных сосудистых протезов из полигидроксипропирата/валерата и поликапролактона конфигурациями RGDK, AhRGD и с[RGDFK] не меняет структуру поверхности. Применение протяженного линкера 4,7,10-триокса-1,13-три-

декандиамин улучшает физико-механические свойства сосудистых протезов, приближая значения модуля Юнга и силы, приложенной к образцам до начала разрушения, к показателям внутренней грудной артерии. Сосудистые протезы, модифицированные длинным линкером 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин в сочетании с RGDK, с[RGDFK], при контакте с тромбоцитами в 1,4 раза меньше провоцируют деформацию тромбоцитов, а выявляемая деформация преимущественно соответствует II и III типу, что свидетельствует о меньшей активации тромбоцитов при контакте с поверхностью данных протезов.

3. Использование для модифицирования полимерной поверхности комбинации «пептид с[RGDFK] + линкер 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин» улучшает матричные свойства поверхности сосудистых протезов на основе полигидроксibuтирата/валерата и поликапролактона, в 6 раз увеличивая количество адгезированных эндотелиальных клеток и повышая их жизнеспособность и пролиферативную активность. Парный аналог сосудистого полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-протеза с коротким линкером «пептид с[RGDFK] + линкер 1,6-гексаметилендиамин» демонстрирует низкие результаты клеточной жизнеспособности даже на фоне удовлетворительной клеточной адгезии.
4. Проходимость RGD-модифицированных сосудистых полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-протезов составила 100% спустя 3 месяца имплантации в брюшную часть аорты крыс, тогда как немодифицированных полигидроксibuтират/валерат/поликапролактон-протезов – лишь в 66,6% случаев. Модифицирование поверхности сосудистых протезов комбинацией «пептид с[RGDFK] + линкер 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин» одновременно обеспечивает раннюю и полноценную эндотелизацию внутренней поверхности протезов, сбалансированное формирование элементов новообразованной сосудистой ткани и меньшую склонность к кальцификации стенки сосудистых протезов, имплантированных в аорту крыс.

Практические рекомендации

1. При разработке RGD-пептидов следует учитывать свойства планируемых к вводу аминокислот, карбоновых кислот и других веществ, конфигурацию молекулы, а также протяженность линкерной группы, посредством которой RGD-пептид будет иммобилизован к полимерной поверхности. Так как линкер влияет на биодоступность молекулы для эндотелиальных клеток, а состав RGD-пептида может спровоцировать активную кальцификацию стенки изделия.

2. Для ускорения эндотелизации поверхности искусственного материала, контактирующего с кровью, рекомендуется иммобилизация на эту поверхность RGD-пептидов, имеющих в своем составе остаток аминокислоты лизина, в частности, RGDK и c[RGDFK] с использованием линкерной группы 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамин или аналогичного по протяженности и химическому составу диамина.
3. Для сохранения и/или улучшения изначальных физико-механических свойств биодеградируемых сосудистых протезов, подвергаемых модифицированию RGD-пептидами, необходимо учитывать время воздействия данной процедуры, чтобы добиться максимального количества линкерных групп без деструктивного воздействия на полимерный материал.
4. Перед имплантацией сосудистые протезы, модифицированные RGD-пептидами, следует стерилизовать в условиях ионизирующего излучения с целью сохранения функциональной активности RGD-пептидов.
5. При имплантации необходимо применять протез необходимой длины, отрез осуществлять острыми ножницами, не совершать с ним грубых манипуляций для предупреждения деформации протеза.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Bioabsorbable bypass grafts biofunctionalised with RGD have enhanced biophysical properties and endothelialisation tested *in vivo* / L.V. Antonova, A.M. Seifalian, A.G. Kutikhin, V.V. Sevostyanova, E.O. Krivkina, A.V. Mironov, A.Y. Burago, E.A. Velikanova, V.G. Matveeva, T.V. Glushkova, **E.A. Sergeeva**, G.Y. Vasyukov, Y.A. Kudryavtseva, O.L. Barbarash, L.S. Barbarash // *Frontiers in Pharmacology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 136–145.
2. Conjugation with RGD peptides and incorporation of vascular endothelial growth factor are equally efficient for biofunctionalization of tissue-engineered vascular grafts / L.V. Antonova, A.M. Seifalian, A.G. Kutikhin, V.V. Sevostyanova, V.G. Matveeva, E.A. Velikanova, A.V. Mironov, A.R. Shabaev, T.V. Glushkova, **E.A. Senokosova**, G.Y. Vasyukov, E.O. Krivkina, A.Y. Burago, Y.A. Kudryavtseva, O.L. Barbarash, L.S. Barbarash // *International journal of molecular sciences*. – 2016. – Vol. 17. – № 11. – P. 1920–1930.
3. Biofunctionalization of polycaprolactone scaffolds with RGD peptides for the better cells integration / V.G. Matveeva, A.M. Seifalian, L.V. Antonova, E.A. Velikanova, **E.A. Sergeeva**, E.O. Krivkina, T.V. Glushkova, Y.A. Kudryavtseva, O.L. Barbarash, L.S. Barbarash // *AIP Conference Proceedings*. – 2016. – Vol. 1760. – P. 020048-1–020048-5.
4. Surface functionalization of compliance vascular grafts with bioactive RGD peptides improves endothelialisation *in vivo* / E.A. Velikanova, A.M. Seifalian, V.G. Matveeva, V.V. Sevostyanova, A.V. Mironov, **E.A. Sergeeva**, E.O. Krivkina, T.V. Glushkova, Y.A. Kudryavtseva, L.V. Antonova, L.S. Barbarash // *Abstracts*

- book of 4th International Conference on Nanotechnology in Medicine. – Warsaw, 2016. – P. 18.
5. Biocompatibility of small-diameter vascular grafts in different modes of RGD modification / L.V. Antonova, V.N. Silnikov, V.V. Sevostyanova, A.E. Yuzhalin, L.S. Koroleva, E.A. Velikanova, A.V. Mironov, T.S. Godovikova, A.G. Kutikhin, T.V. Glushkova, I.Y. Serpokrylova, **E.A. Senokosova**, V.G. Matveeva, M.Y. Khanova, T.N. Akentyeva, E.O. Krivkina, Y.A. Kudryavtseva, L.S. Barbarash // *Polymers*. – 2019. – Vol. 17. – № 11. – P. 174–191.
6. Оценка адгезии, пролиферации и жизнеспособности эндотелиальных клеток пупочной вены человека, культивируемых на поверхности биodeградируемых нетканых матриксов, модифицированных RGD-пептидами / Л.В. Антонова, В.Н. Сильников, М.Ю. Ханова, Л.С. Королева, И.Ю. Серпокрьлова, Е.А. Великанова, В.Г. Матвеева, **Е.А. Сенокосова**, А.В. Миронов, Е.О. Кривкина, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2019. – Т. 21. – № 1. – С. 142–152.
7. The ability of usage various RGD configurations for the biodegradable vascular graft modification / L.V. Antonova, E.O. Krivkina, **E.A. Senokosova**, V.N. Silnikov, E.A. Velikanova, T.V. Glushkova // *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. – 2019. – Vol. 511. – P. 012036–012040.
8. Новая технология модифицирования RGD-пептидами поверхности биodeградируемых сосудистых протезов: влияние на структуру поверхности и физико-механические свойства / Л.В. Антонова, В.Н. Сильников, Т.В. Глушкова, Л.С. Королева, И.Ю. Серпокрьлова, В.В. Севостьянова, Е.О. Кривкина, **Е.А. Сенокосова**, А.В. Миронов, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // *Современные технологии в медицине*. – 2019. – № 3. – С. 15–21.
9. Биodeградируемый сосудистый протез, модифицированный RGD-пептидами: экспериментальное исследование / Е.О. Кривкина, В.Н. Сильников, А.В. Миронов, Е.А. Великанова, **Е.А. Сенокосова**, Т.В. Глушкова, Т.Н. Акентьева, Ю.А. Кудрявцева, Л.В. Антонова // *Сибирский медицинский журнал*. – 2019. – Т. 34. – № 2. – С. 129–137.
10. Биосовместимость биodeградируемого сосудистого графта малого диаметра в зависимости от вида модификации RGD-пептидами: экспериментальное исследование *in vitro*, *in vivo* / Л.В. Антонова, **Е.А. Сенокосова**, В.Н. Сильников, Е.О. Кривкина, Ю.А. Кудрявцева, Л.С. Барбараш // *Материалы конгресса «Трансплантация и донорство органов»*. – Москва, 2019. – С. 163.
11. Биофункционализация биodeградируемых сосудистых протезов малого диаметра RGD-пептидами: итоги экспериментального исследования / Л.В. Антонова, **Е.А. Сенокосова**, В.Н. Сильников, Е.О. Кривкина, А.В. Миронов, Л.С. Барбараш // *Гены и Клетки*. Т. 14. Приложение. Материалы IV Национального конгресса по регенеративной медицине. – Москва, 2019. – С. 24.
12. Биodeградируемый сосудистый протез малого диаметра: виды модифицирования биологически активными молекулами и RGD-пептидами / **Е.А. Сенокосова**, Е.О. Кривкина, Л.В. Антонова, Л.С. Барбараш // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2020. – Т. 22. – № 1. – С. 86–96.

Патент

Пат. RU 2699045 C1 Способ модификации поверхности биodeградируемых полимерных материалов / Сильников В.Н., Королева Л.С., Серпокрылова И.Ю., Годовикова Т.С., Миронов А.В., **Сенокосова Е.А.**; заявитель и патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН) (RU). – № 2018144850, дата регистрации: 03.09.2019; опубл. 03.09.2019. бюл. № 25.

Список сокращений

Ah	– аминокaproновая кислота
AhRGD	– Ah-Arg-Gly-Asp
CD	– cluster of differentiation/кластер дифференцировки
c[RGDFK]	– c[Arg-Gly-Asp-Phe-Lys]
K	– лизин
LA-GRGDG-Ah	– LA-Gly-Arg-Gly-Asp-Gly-Ah
RGD	– Arg-Gly-Asp
RGDK	– Arg-Gly-Asp-Lys

**IX. ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ
В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ
ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ
В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ
В 2020 г.**

1. Basok, Y.B. Fabrication of Microdispersed Tissue-Specific Decellularized Matrix from Porcine Articular Cartilage / Y.B. Basok, A.D. Kirillova, A.M. Grigoryev et al. // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2020. – Vol. 11. – Iss. 5. – P. 1153–1159. doi: 10.1134/S2075113320050044.
2. Fesenko, E.E. The Condition of the Rat Myocardium and Isolated Sheep Heart after Prolonged 24-Hour Hypothermic Preservation in a Pressurized Carbon Monoxide–Oxygen Gas Mixture / E.E. Fesenko, E.L. Gagarinsky, A.S. Averin et al. // *Biophysics*. – 2020. – Vol. 65. – Iss. 4. – P. 666–675. doi: 10.1134/S0006350920040065.
3. Fursova, N.K. Emergence of Five Genetic Lines ST395(NDM-1), ST13(OXA-48), ST3346(OXA-48), ST39(CTX-M-14), and Novel ST3551(OXA-48) of Multi-drug-Resistant Clinical *Klebsiella pneumoniae* in Russia / N.K. Fursova, E.I. Ashtashkin, N.I. Gabrielyan et al. // *Microbial Drug Resistance*. – 2020. – doi: 10.1089/mdr.2019.0289.
4. Gautier, S.V. Artificial heart in Russia: Past, present, and future / S.V. Gautier, A.O. Shevchenko, G.P. Itkin et al. // *Artificial Organs*. – 2020. – doi: 10.1111/aor.13860.
5. Gautier, S. Deceased vs living donor grafts for pediatric simultaneous liver-kidney transplantation: A single-center experience / S. Gautier, A. Monakhov, O. Tsiroulnikova et al. // *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. – 2020. – e23219. doi: 10.1002/jcla.23219.
6. 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 et al. // *Pediatric Transplantation*. – First published: 12 December 2020. – e13934. – doi: 10.1111/petr.13934.
7. Itkin, G.P. Haemodynamic evaluation of the new pulsatile-flow generation method in vitro / G.P. Itkin, A.S. Bychnev, A.P. Kuleshov, A.A. Drobyshhev // *The International Journal of Artificial Organs*. – 2020. – Vol. 43. – Iss. 3. – P. 157–164. doi: <https://doi.org/10.1177/0391398819879939>.
8. Kisil, O.V. Development of Antimicrobial Therapy Methods to Overcome the Antibiotic Resistance of *Acinetobacter baumannii* / O.V. Kisil, T.A. Efimenko, N.I. Gabrielyan, O.V. Efremenkova // *Acta Naturae*. – 2020. – Vol. 12. – Iss. 3 (46). – P. 34–45. doi: 10.32607/actanaturae.10955.
9. Kurabekova, R. Transforming growth factor beta 1 levels in the blood of pediatric liver recipients: Clinical and biochemical correlations / R. Kurabekova, O. Tsiroulnikova, I. Pashkova et al. // *Pediatric Transplantation*. – e13693. – doi: 10.1111/petr.13693.
10. Lomero, M. Donation after circulatory death today: an updated overview of the European landscape / M. Lomero, D. Gardiner, E. Coll et al. // *Transplant International*. – 2020. – Vol. 33. – Iss. 1. – P. 76–88. doi: 10.1111/tri.13506.

11. Mochalov, K.E. Nanoscale Correlation Analysis of the Morphological, Optical, and Magnetic Structure of Polymer Microspheres for Multiplex Diagnostics / K.E. Mochalov, O.I. Agapova, A.N. Generalova et al. // *Technical Physics Letter*. – 2020. – Vol. 46. – № 3. – P. 224-227. doi: 10.1134/S1063785020030128.
12. Nifontova, G. Controlling Charge Transfer from Quantum Dots to Polyelectrolyte Layers Extends Prospective Applications of Magneto-Optical Microcapsules / G. Nifontova, V. Krivenkov, M. Zvaigzne et al. // *ACS Applied Materials and Interfaces*. – 2020. – Vol. 12. – Iss. 32. – P. 35882–35894. doi: 10.1021/acsami.0c08715.
13. Zubanova, E.M. Sorption of Water Vapor by Gelatin-Based Polymers: Estimation of Rate and Degree of Sorption Using the Spin-Probe Method / E.M. Zubanova, E.N. Golubeva, M.Y. Melnikov et al. // *Moscow University Chemistry Bulletin*. – 2020. – Vol. 75. – Iss. 5. – P. 269–273.

Трансплантология: итоги и перспективы

Том XII

2020 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 17.08.21. Формат бумаги 70×100 ¹/₁₆.
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. листов 28. Тираж 1000 экз.

Заказ № СП-1504-21

Отпечатано в ООО «Тверской Печатный Двор».
170100, г. Тверь, ул. Московская, д. 82

