

*Посвящается 45-летию  
Федерального научного центра  
трансплантологии и искусственных органов  
имени академика В.И. Шумакова*



Министерство здравоохранения Российской Федерации

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

Общероссийская общественная организация трансплантологов  
«Российское трансплантологическое общество»

---

**Трансплантология:  
итоги и перспективы  
Том V  
2013 год**

Под редакцией академика РАН С.В. Готье

Москва  
2014

**УДК 616-089.819.843**  
**ББК 52.5**  
**Т65**

**Т65** **Трансплантология: итоги и перспективы. Том V. 2013 год /**  
Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада»,  
2014. – 352 с.: ил.

ISBN 978-5-94789-649-7

В том ежегодного издания содержит документы и аналитические материалы, отражающие клинические и научные аспекты проблем трансплантологии и разработки искусственных органов в Российской Федерации по итогам 2013 года. Анализ трансплантационной активности в Российской Федерации за 2013 год представлен по данным VI сообщения регистра Российского трансплантологического общества. Информация о результатах научных исследований, включенная в настоящую книгу, основана на материалах научных отчетов, авторефератов диссертаций, защищенных в 2013 году по специальности «трансплантология и искусственные органы», библиографии публикаций российских ученых в российских и зарубежных изданиях в 2013 году.

**ББК 52.5**

*Редакторы и составители:*

**С.В. Готье, О.П. Шевченко, О.М. Цирульникова, Е.В. Яновская,  
Е.А. Стаханова, О.Н. Щетинина**

**ISBN 978-5-94789-649-7**

© С.В. Готье, 2014

© Макет ООО «Издательство «Триада», 2014

# Авторы

**Агапов Игорь Иванович**

Доктор биологических наук, профессор,  
заведующий лабораторией бионанотехнологий  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Ахаладзе Дмитрий Гурамович**

Кандидат медицинских наук,  
врач-хирург хирургического отделения № 2  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Белокуров Денис Александрович**

Врач-хирург кардиохирургического отделения № 1  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Бурцев Вячеслав Иванович**

Младший научный сотрудник лаборатории  
биотехнических систем  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Волкова Елена Алексеевна**

Кандидат ветеринарных наук,  
ведущий научный сотрудник отдела координации  
и мониторинга научных программ  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Готье Сергей Владимирович**

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,  
директор  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Ефимов Антон Евгеньевич**

Кандидат физико-математических наук,  
старший научный сотрудник  
лаборатории бионанотехнологий  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Зайденов Владимир Анатольевич**

Кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник отдела клинической патологии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Иткин Георгий Пинкусович**

Доктор биологических наук, профессор,  
заведующий лабораторией биотехнических систем  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Курсанова Людмила Анфилофьевна**

Кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник лаборатории  
клеточной трансплантации  
отдела биомедицинских технологий  
и тканевой инженерии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Кормер Аркадий Янкелевич**

Кандидат медицинских наук,  
ведущий научный сотрудник отдела кардиохирургии,  
трансплантации сердца и легких  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Кунцевич Надежда Викторовна**

Кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник отдела регуляторных механизмов  
в трансплантологии с лабораторией клинической  
и экспериментальной биохимии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Курабекова Ривада Мусабековна**

Кандидат медицинских наук,  
старший научный сотрудник отдела регуляторных механизмов  
в трансплантологии с лабораторией клинической  
и экспериментальной биохимии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Миронков Борис Леонтьевич**

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий отделением рентгенохирургических  
методов лечения  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Мойсюк Ян Геннадиевич**

Доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий отделом клинической трансплантологии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

---

**Олефиренко Галина Александровна**

Доктор медицинских наук,  
главный научный сотрудник отдела регуляторных механизмов  
в трансплантологии с лабораторией клинической  
и экспериментальной биохимии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Онищенко Нина Андреевна**

Доктор медицинских наук, профессор,  
заведующая лабораторией биотехнологии  
стволовых клеток отдела биомедицинских технологий  
и тканевой инженерии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ

**Остроумов Евгений Николаевич**

Доктор медицинских наук, профессор,  
врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Пономарева Анна Сергеевна**

Научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии  
и систем доставки отдела биомедицинских технологий  
и тканевой инженерии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Попцов Виталий Николаевич**

Доктор медицинских наук, профессор,  
заместитель директора по реализации  
высокотехнологичных программ,  
заведующий отделом анестезиологии, реанимации  
и интенсивной терапии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Рядовой Иван Григорьевич**

Врач-хирург отделения рентгенохирургических  
методов лечения  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Севастьянов Виктор Иванович**

Доктор биологических наук, профессор,  
заведующий отделом биомедицинских технологий  
и тканевой инженерии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Скалецкий Николай Николаевич**

*Доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий лабораторией клеточной трансплантации  
отдела биомедицинских технологий  
и тканевой инженерии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Стаханова Екатерина Анатольевна**

*Научный сотрудник отдела координации  
и мониторинга научных программ  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Столяревич Екатерина Сергеевна**

*Доктор медицинских наук,  
старший научный сотрудник отдела нефрологических  
проблем трансплантации почки  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Строков Александр Григорьевич**

*Кандидат медицинских наук,  
заведующий отделением гемодиализа  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Сушков Александр Игоревич**

*Научный сотрудник  
отдела клинической трансплантологии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Сысоев Андрей Анатольевич**

*Ведущий инженер лаборатории биотехнических систем  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Томилина Наталья Аркадьевна**

*Доктор медицинских наук, профессор  
заведующая отделом нефрологических проблем  
трансплантации почки  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*

**Халилулин Тимур Абдулнаимович**

*Кандидат медицинских наук,  
врач-хирург кардиохирургического отделения № 3  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ*



---

**Хомяков Сергей Михайлович**

Кандидат медицинских наук,  
заведующий лабораторией стратегии и мониторинга  
развития трансплантологической помощи  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Цирульникова Ирина Евгеньевна**

Врач хирургического отделения № 2  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Цирульникова Ольга Мартеновна**

Доктор медицинских наук,  
главный научный сотрудник отдела клинической  
трансплантологии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Шагидулин Мурат Юнусович**

Кандидат медицинских наук,  
заведующий отделом экспериментальной  
трансплантологии и искусственных органов  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Шевченко Алексей Олегович**

Доктор медицинских наук, профессор кафедры кардиологии  
факультета усовершенствования врачей РНИМУ  
им. Н.И. Пирогова  
главный научный сотрудник  
отдела координации и мониторинга научных программ  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Шевченко Ольга Павловна**

Доктор медицинских наук, профессор,  
заместитель директора по научной работе,  
заведующая отделом регуляторных механизмов  
в трансплантологии с лабораторией клинической  
и экспериментальной биохимии  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

**Шумаков Дмитрий Валерьевич**

Член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,  
профессор,  
заведующий кардиохирургическим отделением № 2  
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ

# Оглавление

<b>ПРЕДИСЛОВИЕ</b> .....	11
<b>I. ПЕРВЫЙ РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС «ТРАНСПЛАНТАЦИЯ И ДОНОРСТВО ОРГАНОВ» <i>Шевченко О.П.</i> .....</b>	13
<b>II. ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2013 ГОДУ (VI сообщение регистра Российского трансплантологического общества) <i>Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.</i> .....</b>	29
<b>III. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	57
<b>Трансплантация органов</b> .....	59
Биохимические, биофизические, иммунные механизмы поражения и обратного ремоделирования миокарда при застойной сердечной недостаточности и после трансплантации сердца <i>Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Попцов В.Н., Шумаков Д.В.</i> .....	60
Молекулярные механизмы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата <i>Шевченко О.П., Миронков Б.Л., Шевченко А.О., Кормер А.Я., Олефиренко Г.А., Халилулин Т.А., Стаханова Е.А.</i> .....	74
Изучение биологических аспектов взаимодействия трансплантата и реципиента и разработка путей пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента <i>Готье С.В., Цирульникова О.М., Томилина Н.А., Курабекова Р.М., Кунцевич Н.В., Столяревич Е.С., Шевченко О.П.</i> .....	87
Разработка и усовершенствование технологий трансплантации органов и тканей в условиях тканевой несовместимости и от АВ0-несовместимых доноров <i>Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Сушков А.И., Шевченко О.П., Цирульникова И.Е., Цирульникова О.М., Зайденов В.А.</i> .....	114

<b>Регенеративная медицина и клеточные технологии</b> .....	127
Системный микро- и наноструктурный анализ полимерных материалов для заместительной и регенеративной медицины <i>Агапов И.И., Ефимов А.Е.</i> .....	128
Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций поджелудочной железы из культур островковых клеток поджелудочной железы и биodeградируемых носителей с целью стимуляции регенерации $\beta$ -клеток у больных сахарным диабетом <i>Скалецкий Н.Н., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И.</i> .....	138
Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций печени из ассоциатов клеток печени и биodeградируемых носителей <i>Готье С.В., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.</i> .....	151
<b>Искусственные органы</b> .....	167
Разработка методики экспериментальной и клинической апробации имплантируемых осевых насосов <i>Иткин Г.П., Волкова Е.А.</i> .....	168
Разработка методики бивентрикулярного обхода сердца с помощью осевых насосов в эксперименте <i>Иткин Г.П., Бурцев В.И.</i> .....	178
Разработка медико-технических требований к осевому насосу для двухэтапной трансплантации сердца у детей <i>Иткин Г.П., Сысоев А.А.</i> .....	189
<b>Наиболее значимые результаты НИР за 2013 г. по комплексной проблеме медицины «Трансплантология и искусственные органы» (по материалам отчета в научный совет по трансплантологии и искусственным органам)</b> .....	199
<b>IV. КНИГИ И МОНОГРАФИИ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ В 2013 г. ПО ПРОБЛЕМЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ</b> .....	207
<b>V. ДИССЕРТАЦИИ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ», ЗАЩИЩЕННЫЕ В 2013 г.</b> .....	215
<b>Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук</b> .....	219

*Строков А.Г.*

Программный гемодиализ: модификация режимов для коррекции  
сердечно-сосудистых нарушений ..... 220

**Авторефераты диссертаций на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук ..... 257**

*Ахаладзе Д.Г.*

Реваскуляризация трансплантата левого латерального сектора  
печени у детей ..... 258

*Белокуров Д.А.*

Коррекция пороков сердца в условиях искусственного  
кровообращения у больных на заместительной почечной терапии ..... 277

*Пономарева А.С.*

Разработка и экспериментальное исследование клеточно-  
инженерной конструкции хрящевой ткани ..... 297

*Рядовой И.Г.*

Коронарная ангиопластика у реципиентов почечного  
трансплантата ..... 319

**VI. УКАЗАТЕЛЬ РАБОТ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ  
В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ  
ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЗАРУБЕЖНЫХ  
ИЗДАНИЯХ В 2013 г. .... 341**

## *Глубокоуважаемые коллеги!*

*Вашему вниманию представлен пятый том ежегодного издания «Трансплантология: итоги и перспективы». Пять лет – это хоть и скромный, но все же юбилей и вполне серьезное основание для анализа и подведения некоторых итогов. Проект издания серии книг, включающих наиболее полный свод данных о научных и клинических результатах в области трансплантологии и искусственных органов за прошедший год, был инициирован нами в 2009 году. Цель была вполне прагматичной – дать в руки трансплантологов, врачей и ученых смежных специальностей уже подобранную информацию – и в то же время амбициозной: содействовать развитию и становлению отечественной трансплантологии путем интеграции специалистов России, обобщения результатов, анализа тенденций.*

*Опыт прошедших лет и отклики, которые мы получаем, показали, что наше издание востребовано и полезно. Планируется дальнейшее развитие проекта «Трансплантология: итоги и перспективы».*

*Настоящий выпуск традиционно включает информацию о прошедшем в 2013 году Первом Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов»; очередное, V сообщение регистра Российского трансплантологического общества, результаты научных исследований, основанные на материалах научных отчетов, авторефератов диссертаций, защищенных в 2013 году по специальности «трансплантология и искусственные органы», библиографии публикаций российских ученых в российских и зарубежных изданиях в 2013 году и др.*

*В том настоящего издания выпущен в свет в год 45-летия ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова», приурочен и посвящен этому знаменательному не только для Центра им. В.И. Шумакова, но и для всей отечественной трансплантологии, событию.*

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





---

**I. ПЕРВЫЙ РОССИЙСКИЙ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС  
«ТРАНСПЛАНТАЦИЯ  
И ДОНОРСТВО ОРГАНОВ»**

---

## **ПЕРВЫЙ РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС «ТРАНСПЛАНТАЦИЯ И ДОНОРСТВО ОРГАНОВ»**

*Шевченко О.П.*

29–31 мая 2013 года в Москве состоялся Первый Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов». Это первое в нашей стране событие такого масштаба, в фокусе которого – обсуждение всего комплекса ключевых вопросов трансплантологии и регенеративной медицины, имеющих не только научное и практическое, но и огромное социальное, общественное значение. Конгресс организован в соответствии с Планом научно-практических мероприятий Министерства здравоохранения Российской Федерации на 2013 год, утвержденным приказом Минздрава России от 23 апреля 2013 года № 245.

В мероприятии приняли участие ведущие ученые, врачи, организаторы здравоохранения, главные внештатные специалисты-трансплантологи из большинства регионов России, российские и зарубежные специалисты в области клинической и экспериментальной трансплантологии, ректоры и представители Союза ректоров медицинских и фармацевтических вузов

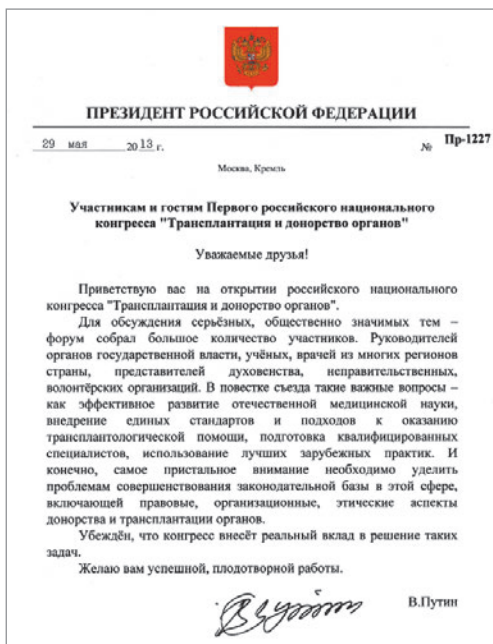


*29–31 мая 2013 года в Москве состоялся Первый Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов»*





*Открывая конгресс, председатель Российского трансплантологического общества академик РАМН С.В. Готье зачитал приветствие Президента РФ Владимира Владимировича Путина*



*Приветствие Президента РФ Владимира Владимировича Путина участникам и гостям Первого Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов»*

России, представители профессиональных медицинских обществ и ассоциаций, индустрии медицинской техники и фармакологических препаратов.

Открывая конгресс, председатель Российского трансплантологического общества академик РАМН С.В. Готье зачитал приветствие Президента РФ Владимира Владимировича Путина, в котором было отмечено, что для обсуждения серьезных, общественно значимых тем форум собрал большое количество участников. Это руководители органов государственной власти, ученые, врачи из многих регионов страны, представители духовенства, неправительственных, волонтерских организаций. В приветствии подчеркнуто, что самое пристальное внимание необходимо уделить проблемам совершенствования законодательной базы в сфере, включающей правовые, организационные, этические аспекты донорства и трансплантации органов. В повестке конгресса такие важные вопросы, как эффективное развитие отечественной медицинской науки, внедрение единых стандартов и подходов к оказанию трансплантологической помощи, подготовка квалифицированных специалистов, использование лучших зарубежных практик.

Участникам конгресса были зачитаны приветствия председателя Совета Федерации Федерального Собрания РФ В.И. Матвиенко, председателя Государственной Думы С.Е. Нарышкина, министра здравоохранения Российской Федерации В.И. Скворцовой, руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей Г.Г. Онищенко, руководителя Федерального медико-биологического агентства России В.В. Уйбы. С приветственным словом выступили заместитель министра здравоохранения РФ А.В. Юрин, первый заместитель председателя Комитета Государственной Думы по охране здоровья, академик РАМН Н.Ф. Герасименко, заместитель руководителя Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения И.Ф. Серегина.

Первый Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов» имел яркое социальное звучание. К торжественному открытию конгресса по благословению митрополита Марка в Центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова был доставлен огонь, зажженный от священного Благодатного огня в Новодевичьем монастыре, как символ духовности и поддержки Русской православной церковью усилий трансплантологов по спасению человеческих жизней.



*В Центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова был доставлен огонь, зажженный от священного Благодатного огня в Новодевичьем монастыре*



*Почетным знаком «Дарящему часть себя» награждены родственные доноры почки и части печени, спасшие жизнь своих близких*

Завершила церемонию открытия конгресса торжественная акция «Люди ради людей», безусловной эмоциональной и нравственной доминантой которой стало награждение за гуманизм и самопожертвование почетным знаком «Дарящему часть себя» родственных доноров почки и части печени, спасших таким образом жизнь своих близких.

Обширная программа конгресса включала ряд конференций, каждая из которых представляла самостоятельный интерес и значение, а все вместе эти мероприятия позволили составить общую картину состояния, проблем и перспектив развития трансплантологии в нашей стране. Это IV Всероссийская конференция «Донорство органов – ключевая проблема трансплантологии», 1-й Российский образовательный форум «Трансплантология и донорство органов в программах высшего и дополнительного профессионального образования», III Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена», конференция «Регенеративная медицина и клеточные технологии», III Шумаковские чтения, лекции, «круглые столы». В рамках конгресса прошло заседание профильной комиссии по трансплантологии Министерства здравоохранения Российской Федерации; состоялось 2-е совещание рабочей группы первого многоцентрового научно-клинического исследования «БАЗАЛЬТ» (Биомаркеры в прогнозировании ближайших и отдаленных результатов трансплан-



*На конгрессе выступил медицинский советник по трансплантологии Всемирной организации здравоохранения Jose R. Nunez с лекцией «Донорская служба: организационные аспекты»*

тации сердца), организованного Российским трансплантологическим обществом.

Насыщенная программа конгресса включала 47 научных докладов, представленных ведущими российскими и зарубежными учеными и клиницистами, в которых были затронуты вопросы, касающиеся состояния проблемы оказания трансплантологической помощи в регионах Российской Федерации: организационно-правовых, социальных и этических аспектов донорства органов; состояния проблемы донорства и клинической трансплантации органов в регионах Российской Федерации; регенеративной медицины и клеточных технологий; «критических технологий» в современной медицине; систем

вспомогательного кровообращения и искусственного сердца; образования и повышения квалификации врачей и ученых в области трансплантологии и регенеративной медицины.

С лекцией «Донорская служба: организационные аспекты» на конгрессе выступил медицинский советник по трансплантологии Всемирной организации здравоохранения Jose R. Nunez.

С лекциями также выступили профессор кафедры хирургических болезней факультета общей хирургии и трансплантации органов Римского католического университета Gabriele Sganga («Грибковые инфекции у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию») и руководитель отделения трансплантационной и клинической иммунологии клиники университета г. Тур Yvon Lebranchu («Выбор тактики индукционной терапии при трансплантации почки у реципиентов высокого риска»).

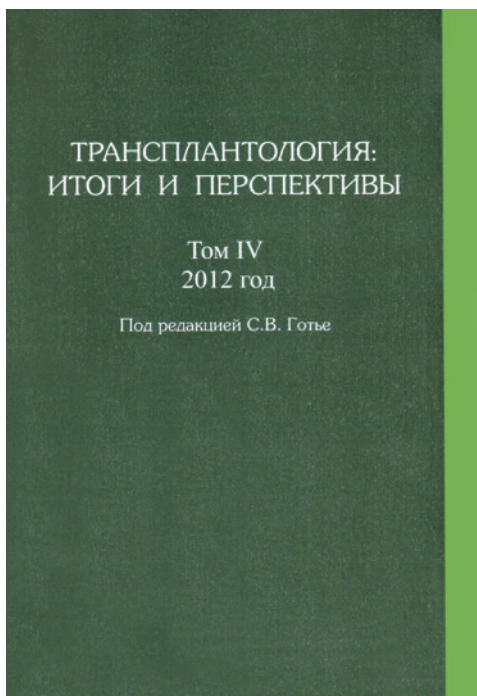
На конференции «Регенеративная медицина и клеточные технологии» были представлены доклады, посвященные наиболее современным, инновационным аспектам биомедицинской науки.

Все доклады, представленные на конгрессе, продемонстрировали высокую научную подготовленность участников. Делегаты конгресса выразили уверенность, что полученная ими новейшая научно-практическая информация, приобретенный профессиональный опыт будут способствовать разработке новых научных аспектов клинической и эксперимен-



*Рабочие моменты конференции «Регенеративная медицина и клеточные технологии»*

тальной трансплантологии, смежных специальностей, увеличению объема, качества и улучшению организации трансплантологической помощи населению Российской Федерации.



*IV том фундаментального издания  
«Трансплантология:  
итоги и перспективы»*

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

В дальнейших выпусках журнала мы продолжим публикацию наиболее значимых результатов научных исследований и уникальных клинических наблюдений, представленных на конгрессе. В настоящей статье более подробно освещены два мероприятия конгресса – впервые организованный образовательный форум «Трансплантология и донорство органов в программах высшего дополнительного профессионального образования» и традиционно проводимую конференцию «Научные школы и новые имена».

Участники конгресса получили очередной, IV том фундаментального издания «Трансплантология: итоги и перспективы».

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

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

## **Первый Российский образовательный форум «Трансплантология и донорство органов в программах высшего и дополнительного профессионального образования»**

30 мая состоялся Первый российский образовательный форум «Трансплантология и донорство органов в программах высшего и дополнительного профессионального образования».

Основная цель развития трансплантологии, определяющая основные направления кадровой политики, – повышение доступности качественной медицинской помощи методом трансплантации органов в соответствии с реальной потребностью населения и донорским ресурсом.

В РФ трансплантации трупных органов выполняются в 18 регионах, 37 медицинскими организациями (так называемыми центрами трансплантации), которые в совокупности ежегодно выполняют порядка 1300–1350 трансплантаций органов, в том числе почки – 1000, печени – 240, сердца – 130, поджелудочной железы – 20; осуществляют 400–450 изъятий трупных органов.

Стратегия развития предусматривает организацию донорства и трансплантации органов еще в 49–65 регионах, увеличение числа трансплантаций органов примерно в 10 раз, изъятий трупных органов – до 3000–3500.

Очевидно, что каждый этап донорства и трансплантации органов должен быть обеспечен квалифицированными медицинскими кадрами. При этом возникают вопросы: каких специалистов требуется подготовить? По каким программам их обучать? В каких образовательных и научных учреждениях?

Обсуждались состояние и перспективы подготовки кадров в области трансплантологии, вопросы преподавания основ трансплантологии в рамках Федерального государственного образовательного стандарта третьего поколения на додипломном и постдипломном уровнях. С докладами выступили директор Департамента медицинского образования и кадровой политики в здравоохранении Минздрава России, член-корреспондент РАМН И.В. Маев; заместитель председателя Совета ректоров медицинских и фармацевтических вузов России, ректор МГМСУ им. А.И. Евдокимова профессор О.О. Янушевич; ректор РМАПО, академик РАМН Л.К. Мошетова. Доклад «Пятилетний опыт преподавания трансплантологии в I МГМУ им. И.М. Сеченова» был представлен ректором университета, членом-корреспондентом РАМН П.В. Глыбочко и заведующим кафедрой трансплантологии и искусственных органов этого вуза, директором ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова», академиком РАМН С.В. Готье.



*В рамках конгресса состоялся Первый Российский образовательный форум «Трансплантология и донорство органов в программах высшего и дополнительного профессионального образования»*

Дисциплина «трансплантология и донорство органов» по Федеральному государственному образовательному стандарту не входит в список обязательных и преподается лишь в нескольких ведущих вузах страны. Кроме того, в России, как и в большинстве стран мира, не существует отдельной медицинской специальности «трансплантология». Вместе с тем развитие трансплантологической помощи в России, перспективы внедрения в клинику клеточных технологий и биоинженерии требуют подготовки высококвалифицированных медицинских кадров. Возникает вопрос: где и по каким программам их лучше готовить?

Наибольший опыт постдипломного обучения вопросам трансплантологии и органного донорства накоплен в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова. Кроме того, на базе ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова уже в течение пяти лет успешно функционирует кафедра «Трансплантология и искусственные органы» лечебного факультета I МГМУ им. И.М. Сеченова, где обучаются студенты 6-го курса, а также студенческий научный кружок. В учебном центре осуществляется подготовка ординаторов и аспирантов, проводится повышение квалификации врачей-специалистов для их допуска к оказанию медицинской помощи по транспланто-



логии, регулярно организуются школы трансплантационных координаторов.

Своим опытом преподавания этой дисциплины поделились также представители Волгоградского государственного медуниверситета, Санкт-Петербургского государственного медуниверситета им. И.П. Павлова и Казанского государственного медуниверситета.

Елизавета Сидорова, выпускница, а ныне ординатор I МГМУ им. И.М. Сеченова, поделилась с участниками форума впечатлениями об изучении основ трансплантологии на кафедре трансплантологии и искусственных органов I МГМУ им. И.М. Сеченова и в студенческом научном кружке. Она выступила с докладом «Вопросы трансплантологии в медицинском вузе. Мнение выпускника».

Существующий уровень трансплантологии и искусственных органов в России и мире, а также перспективы дальнейшего развития обосновывают необходимость преподавания дисциплины «трансплантология и искусственные органы» в каждом медицинском вузе страны в рамках основного курса высшего профессионального образования, организации соответствующих кафедр.

По результатам работы форума его участники пришли к единодушному заключению о необходимости и важности развития преподавания трансплантологии как на уровне додипломного, так и последипломного образования.

### **III Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена»**

30 мая 2013 года в рамках Первого Российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов» состоялась традиционно организуемая III Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена». Лидеры научных школ, авторитетные ученые Москвы, Санкт-Петербурга, Новосибирска, Волгограда, Самары представили аудитории и профессиональному сообществу своих учеников, после чего молодые ученые изложили результаты своих работ.

Профессор В.Н. Попцов представил молодого ученого в области анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Е.А. Спирину, которая рассказала о результатах исследования, посвященного раннему периоду после трансплантации сердца.

Профессор М.А. Карпенко из Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова (Санкт-Петербург) представил молодого специалиста Д.А. Лалетина, доложившего результаты исследования по оптимизации терапии правожелудочковой недостаточности при операциях трансплантации сердца.



*Открытие III Всероссийской конференции «Научные школы и новые имена»*

Профессор А.М. Чернявский из Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина представил своего ученика Д.В. Лосика, выступившего с докладом «Клеточная терапия в лечении хронической сердечной недостаточности».

Главный врач Волгоградского областного уронефрологического центра профессор Д.В. Перлин представил молодого ученого О.Н. Шевченко, которая ознакомила присутствующих с результатами исследования по аутотрансплантации почки при протяженном травматическом повреждении мочеточника.

Профессор А.В. Колсанов из Самарского центра трансплантации органов и тканей представил молодого ученого В.В. Гребенникова, который доложил результаты исследований по вариантной анатомии кровоснабжения донорских почек при выполнении операций у асистолических доноров.

Профессор И.М. Ильинский представил сотрудника ФНЦТИО О.Е. Ирышкина, рассказавшего о предварительных результатах исследования клинико-морфологических отличий синдромальной и несиндромальной билиарной гипоплазии у детей – реципиентов донорской печени (ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова, Москва).

Представленные на сессии работы направлены на решение разнообразных научных проблем – это и иммунные взаимоотношения трансплан-



*Профессор В.Н. Попцов представил молодого ученого Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Е.А. Спирину*



*Все молодые ученые, представившие доклады, были награждены почетными дипломами*



*Выставка детских рисунков в финале конкурса «Я живу. Ура!»*



*В последний день конгресса состоялась торжественная акция, посвященная Международному дню защиты детей*

тата и реципиента, и сложнейшие хирургические аспекты трансплантации, и др. Но все работы отличали общие качества, делавшие честь и участникам, и тем научным школам, которые их представили. Это высокий научный и профессиональный уровень, зрелость и ответственность выступающих, значимость полученных результатов для науки и практики. Все молодые ученые, представившие доклады, были награждены почетными дипломами.

В последний день конгресса, 31 мая, состоялась торжественная акция, посвященная Международному дню защиты детей, в ходе которой прошел финал конкурса детского рисунка «Я живу. Ура!». Участники конкурса – спасенные дети.

На территории Центра была открыта и освящена иереем храма во имя преподобного Серафима Саровского при ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России уникальная художественная игровая площадка – «Уголок Доктора Айболита».

Конгресс стал знаковым событием не только в профессиональной, научной, но также и в общественной жизни России, был широко освещен в средствах массовой информации.



---

**II. ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО  
И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ  
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
В 2013 ГОДУ  
(VI сообщение регистра  
Российского  
трансплантологического общества)**

---

# ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2013 ГОДУ

*Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.*

**(VI сообщение регистра Российского  
трансплантологического общества)**

## ВВЕДЕНИЕ

Мониторинг состояния и перспектив 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 2009–2012 гг. [1–5].

Данные регистра входят в следующие международные регистры: International Registry of Organ Donation and Transplantation (IRODaT); Registry of the European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association, ERA – EDTA Registry; Registries of the International Society for Heart and Lung Transplantation – ISHLT Registries.

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

*Таблица 1*

### Участники регистра Российского трансплантологического общества

Данные для Национального регистра по донорству и трансплантации органов предоставлены	
Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Погребниченко И.В., Ахаладзе Д.Г.	ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва
Арзуманов С.В.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт урологии» МЗ РФ, Москва
Валов А.Л.	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва
Каабак М.М., Ким Э.Ф.	ФГБУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского» РАМН, Москва
Восканян С.Э., Губарев К.К.	ФГБУ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва



II. Органное донорство и трансплантация в РФ в 2013 году

Шаталов К.В.	ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАМН, Москва
Бирюкова Л.С.	ФГБУ «Гематологический научный центр» РАМН, Москва
Пинчук А.В., Виноградов В.Л.	ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, Москва
Нестеренко И.В.	ГБУЗ «Городская клиническая больница № 7» ДЗМ, Москва
Минина М.Г.	ГБУЗ «Городская клиническая больница № 11» (МКЦОД)
Ватазин А.В., Бельских Л.В.	ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва
Милосердов И.А.	ФГБУЗ «Клиническая больница № 119» ФМБА России, Московская область
Солошенко А.В.	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород
Платонов В.С.	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж
Медведев В.Л.	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар
Перлин Д.В., Сапожников А.Д.	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский
Жеребцов Ф.К.	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Николаев Г.В.	ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Ананьев А.Н.	ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Резник О.Н., Логинов И.В.	ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург
Гринев К.М., Ищук О.И.	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург
Петров В.С.	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО
Чернявский А.М.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск
Быков А.Ю.	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск
Попов В.А.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, Кемерово
Сальмайер А.А.	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово
Ежикеев С.А.	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск
Семченко С.Б.	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. А.Н. Кабанова», Омск
Григоров Е.В.	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул
Климушева Н.Ф., Серебряков И.Ю.	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург
Полторах Е.А.	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск

Колсанов А.В.	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара
Россоловский А.Н.	ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов
Блувштейн Г.А., Петрова Н.Ю.	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов
Загайнов В.Е., Васенин С.А.	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород
Галеев Ш.Р.	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань
Курбангулов И.Р.	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа

Сбор данных для регистра осуществлялся путем анкетирования руководителей всех центров трансплантации в РФ. Далее нами был проведен сравнительный анализ полученных данных в динамике лет, между отдельными регионами, центрами трансплантации и с данными международных регистров.

## **ЦЕНТРЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ И ЛИСТЫ ОЖИДАНИЯ**

На 31 декабря 2013 года в РФ функционировал 41 центр трансплантации органов, из которых трансплантация почки осуществлялась в 35, трансплантация печени – в 15, трансплантация сердца – в 10, трансплантация поджелудочной железы – в 3, трансплантация легких – в 1, трансплантация комплекса «сердце–легкие» – в 1.

Из 41 центра трансплантации 16 – учреждения федерального подчинения, в том числе 3 – учреждения РАМН (с декабря 2013 г. – учреждения ФАНО), 3 – государственные медицинские университеты; 25 – учреждения подчинения субъектов РФ.

В табл. 2 представлены данные по географии центров трансплантации и листам ожидания.

Действующие в РФ центры трансплантации (41) расположены в 22 субъектах РФ, из них в Москве и Московской области работает 11 центров, в Санкт-Петербурге и Ленинградской области – 5 центров. Остальные субъекты РФ (61) не имеют на своей территории работающих центров трансплантации, несмотря на существующую потребность в трансплантации органов (прежде всего пациенты на диализе) и донорского ресурса [6].

Таблица 2

Размещение центров трансплантации на территории РФ, листы ожидания

Численность населения РФ в 2013 г. (млн чел.)*	Российская Федерация			ДФО			УФО			ДФО											
	Москва и Московская обл.	Белгородская обл.	Воронежская обл.	Краснодарский край	Волгодонская обл.	Санкт-Петербург и Ленинградская обл.	Новосибирская обл.	Кемеровская обл.	Иркутская обл.	Омская обл.	Алтайский край	Свердловская обл.	Челябинская обл.	Самарская обл.	Саратовская обл.	Нижегородская обл.	Республика Татарстан	Республика Башкортостан	Оренбургская обл.	Республика Саха (Якутия)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
<b>ПОЧКА</b>																					
Число центров трансплантации	35	10	1	1	1	1	4	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2013 г.	1536	620	14	45	93	47	60	32	36	12	36	60	76	28	53	53	75	100	57	36	3
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2013 г.	4172	1548	36	106	133	125	312	111	108	32	88	60	264	131	223	71	300	259	208	36	21
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.13 г.	3289	1165	38	91	71	92	257	82	60	14	80	46	194	120	181	60	279	240	166	33	20
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2013 г.	124	35	2	2	0	6	9	3	0	2	3	1	35	0	2	7	5	7	4	0	1
<b>ПЕЧЕНЬ</b>																					
Число центров трансплантации	14	4	1	0	2	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2013 г.	325	148	19	0	14	0	50	24	0	0	0	0	39	0	0	0	21	0	10	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2013 г.	765	254	51	0	47	0	114	60	0	0	0	0	97	0	0	0	85	0	52	0	5
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.13 г.	547	148	63	0	7	0	95	48	0	0	0	0	64	0	0	0	75	0	42	0	5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2013 г.	67	17	3	0	5	0	6	7	0	0	0	0	21	0	0	0	4	0	4	0	0
<b>СЕРДЦЕ</b>																					
Число центров трансплантации	10	3	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛЮ впервые в течение 2013 г.	208	134	5	0	17	0	13	13	12	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2013 г.	402	183	10	0	55	0	22	52	29	0	0	0	51	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.13 г.	171	42	10	0	14	0	7	37	23	0	0	0	38	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2013 г.	50	19	3	0	3	0	4	8	7	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>ПОДЖЕЛУДочНАЯ ЖЕЛЕЗА</b>																					
Число центров трансплантации	3	3	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 2013 г.	25	16	0	0	2	0	0	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2013 г.	103	85	0	0	6	0	0	7	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.13 г.	66	52	0	0	6	0	0	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2013 г.	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>ЛЕТКИЕ</b>																					
Число центров трансплантации	1	1	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 2013 г.	29	27	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛЮ в течение 2013 г.	71	68	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ на 31.12.13 г.	46	44	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛЮ, умерших в течение 2013 г.	10	9	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. \* [http://www.gks.ru/free\\_doc/new\\_site/population/demo/prPopul.xls](http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/demo/prPopul.xls).

В листе ожидания трансплантации почки в течение 2013 г. состояло 4172 потенциальных реципиента (это около 16% от общего числа пациентов, получающих лечение диализом – 26 000). Из них 1536 были включены в лист ожидания впервые.

В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации почки состояло 1548 потенциальных реципиентов (37,1%). Показатель смертности в листе ожидания трансплантации почки в РФ в 2013 г. составил 3,0% (124). В сравнении с 2012 г. лист ожидания трансплантации почки увеличился на 896 человек (+27,4%).

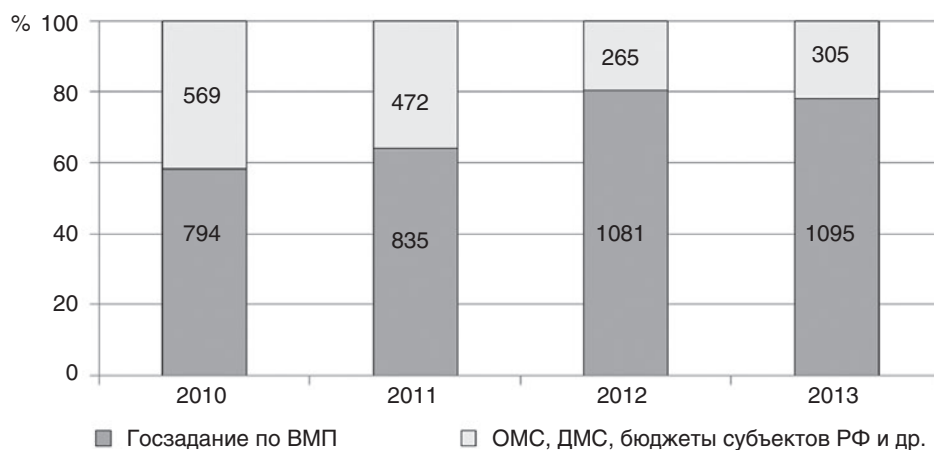
В листе ожидания трансплантации печени в течение 2013 г. состояло 765 потенциальных реципиентов, из них 325 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации печени состояли 254 потенциальных реципиента (33,2%). Показатель смертности в листе ожидания трансплантации печени в РФ в 2013 г. составил 8,8% (67). В сравнении с 2012 г. лист ожидания трансплантации печени увеличился на 277 человек (+56,8%).

В листе ожидания трансплантации сердца в течение 2013 г. состояло 402 потенциальных реципиента, из них 208 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации сердца состояло 183 потенциальных реципиента (45,5%). Показатель смертности в листе ожидания трансплантации сердца в России составил 12,4% (50). В сравнении с 2012 г. (399) лист ожидания трансплантации сердца практически не изменился.

В 2013 г. всего было выполнено 1400 трансплантаций органов, или 9,8 на 1 млн населения (в 2012 г. – 1345, или 9,4 на 1 млн населения), табл. 3 и 4.

По данным Федерального регистра по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи, в 2013 г. за счет средств федерального бюджета и бюджетов субъектов РФ в рамках ежегодного государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» было выполнено 1095 (78,2%) трансплантаций органов. Государственное задание является основным механизмом финансирования трансплантаций органов в России, его доля в общем числе трансплантаций органов с 2010 г. увеличилась на 301 трансплантацию (+37,9%), рис. 1.

В выполнении государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» в 2013 г. участвовали 36 из 41 центра трансплантации (табл. 4).



**Рис. 1. Финансирование трансплантаций органов в РФ в 2010–2013 гг.**

*Таблица 3*

**Донорство и трансплантация органов в РФ в 2013 году**

	Количество (абс.)	Показатель на 1 млн населения*
<b>Донорство органов</b>		
Всего доноров органов	727	
Трупные доноры	420	2,9
Живые родственные доноры	307	2,1
<b>Трансплантация органов</b>		
Всего пересажено органов	1400	9,8
<i>из них несовершеннолетним</i>		
Почка	935	6,5
в т. ч. трупная	747	5,2
от живого донора	188	
<i>из них несовершеннолетним</i>	57	
Печень	272	1,9
в т. ч. трупная	154	1,1
от живого донора	119	
<i>из них несовершеннолетним</i>	69	
Сердце	164	1,1
<i>из них несовершеннолетним</i>	2	
Поджелудочная железа	16	0,1
Легкие	10	0,1
Комплекс «сердце–легкие»	1	
Тонкая кишка	1	

Примечание. \* Численность населения РФ в 2013 г. – 143,3 млн чел. ([http://www.gks.ru/free\\_doc/new\\_site/population/demo/prPopul.xls](http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/demo/prPopul.xls))

Таблица 4

## Трансплантационная активность центров РФ в 2013 году

Центр трансплантации, регион, федеральный округ	Госзадание по ВМП													
	Всего	Почка всего	Почка трупная	Почка родственная	Печень всего	Печень трупная	Печень родственная	Сердце	Поджелудочная железа	Легкие	Комплекс «сердце-легкие»	Тонкая кишка		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ЦФО	+	309	112	64	48	90	37	53	101	5		1		
ФГБУ «Научно-исследовательский институт урологии» МЗ РФ, Москва, ЦФО	+	50	50	18	32									
ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва, ЦФО	+	33	33	33										
ФГБУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского» РАМН, Москва, ЦФО	+	69	46	22	24	20	1	19		3				
ФГБУ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, ЦФО	+	44	3	3		41	4	37						
ФГБУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАМН, Москва, ЦФО	+	4							4					
ФГБУ «Гематологический научный центр» РАМН, Москва, ЦФО	+	4	4	4										
ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, Москва, ЦФО	+	159	91	89	2	36	36	1	12	8	10		1	
ГБУЗ «Городская клиническая больница № 7» ДЗМ, Москва, ЦФО	+	47	47	43	4									
ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, ЦФО		55	55	55										
ФГБУЗ «Клиническая больница № 119» ФМБА России, Московская область, ЦФО	+	19	19	7	12									
ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, ЦФО	+	4	3	2	1	1	1							
БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж, ЦФО	+	13	13	12	1									
ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	+	106	64	64		21	21		21					
МБУЗ «Городская больница № 2 КМЛДО», Краснодар, ЮФО	+	2				2	2							

## Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский, ЮФО	+	33	33	28	5								
ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	+	15	2		2	13	13						
ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	+	5							5				
ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	+	20	20	17	3								
ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, СЗФО	+	6	6	6									
ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, СЗФО	+	17	17	17									
ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО	–	13	11		11	2		2					
ФГБУ «Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, СФО	+	10	3	1	2	1		1	6				
ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, СФО	+	47	25	24	1	22	17	5					
ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово, СФО	+	48	48	48									
ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, Кемерово, СФО	+	5							5				
ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, СФО	+	12	12	11	1								
БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск, СФО	+	23	23	23									
КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, СФО	+	9	9	7	2								
ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, УФО	+	53	34	34		13	13		6				
ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, УФО	+	13	13	11	2								
ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара, ПФО	+	40	40	40									



Окончание таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов, ПФО	+	8	8		8								
ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов, ПФО	–	4	4	4									
ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, ПФО	+	32	25	16	9	7	6	1					
ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, ПФО	+	21	20	12	8	1	1						
«Межрегиональный клиничко-диагностический центр», Казань, ПФО	+	2							2				
ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, ПФО	+	40	38	32	6	2	2						
ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа, ПФО	–	2							2				
ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница», Уфа, ПФО	+	1	1		1								
МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург, ПФО	–	3	3		3								
ИТОГО в РФ		1400	935	747	188	272	154	119	164	16	10	1	1

## ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО

В 2013 году донорские программы осуществлялись в 20 субъектах РФ (из 83), новые донорские программы были организованы в Алтайском крае (КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул) и в Саратовской области (ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов). Также на базе ФМБЦ им. А.И. Бурназяна (Москва) была открыта программа органного донорства ведомственного и межрегионального характера (приказ ФМБА России от 07.06.2013 г. № 149 ФМБА России «Об организации органного донорства в системе ФМБА России»).

Число медицинских организаций, участвующих в донорских программах (донорские стационары), в 2013 г. составило 158 и широко варьировало по регионам – от 1 до 39. Наибольшее число медицинских организаций, имеющих статус донорских стационаров, функционирует в Московской области (39), в системе ФМБА России (22), в Москве (17) и Волгоградской области (15).

Число эффективных доноров в 2013 г. составило 420, или 2,9 на 1 млн населения, это больше на 8 доноров, чем в 2012 г. (412), но меньше, чем в 2011 г. (470) и в «рекордном» 2010 г. (487), табл. 5 и 6. На долю Москвы и Московской области в 2013 г. приходится 43,1% (181) эффективных доноров (в 2012 г. – 41,7%, 172).

Донорская активность в расчете на численность населения регионов, реализующих донорские программы (74,3 млн), составила 5,6. Наиболее высокие показатели донорской активности наблюдались в Москве (10,4), Кемеровской области (9,6), Московской области (8,0), Краснодарском крае (7,7), Омской области (7,0), Самарской области (6,6), Новосибирской области (6,3). Низкий уровень донорской активности в 2013 г. показали Белгородская область (0,7), Алтайский край (1,3), Саратовская область (1,6), Республика Татарстан (1,6), Челябинская область (1,7), Нижегородская область (2,4), Иркутская область (2,5), Воронежская область (2,6), Санкт-Петербург (2,6).

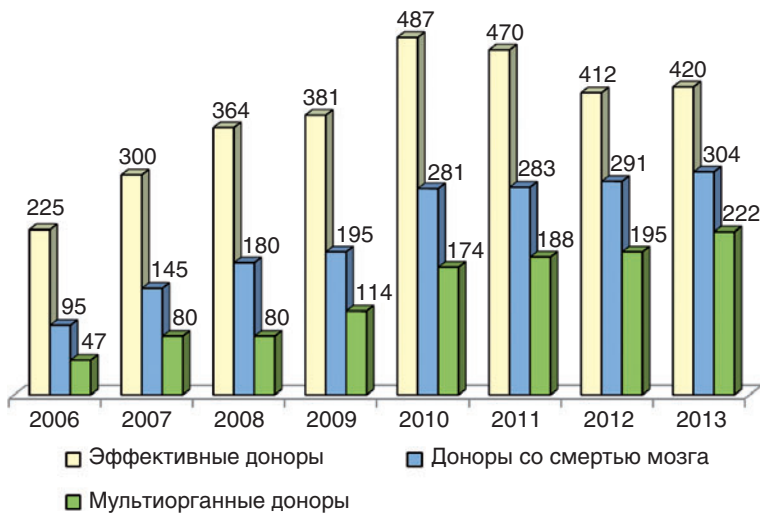
В 2013 г. донорские программы регионов показывали разнонаправленную динамику. Число эффективных доноров увеличилось в 7 регионах: в Москве (+14, или +12,6%), в Омской области (+3, или +27,3%), в Алтайском крае (+3), в Свердловской области (+4, или +28,6%), в Самарской области (+2, или +10,5%), в Саратовской области (+4), в Республике Башкортостан (+4, или +28,6%). Суммарно прирост донорства в этих регионах составил 34 посмертных донора. Алтайский край (Барнаул) и Саратовская область (Саратов) – это новые донорские программы. Еще 6 эффективных доноров было получено в рамках реализации программы органного донорства ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (Москва).

В 10 регионах количество эффективных доноров в 2013 г. уменьшилось: в Московской области (-5, или -8,2%), в Белгородской области (-2, или -66,7%), в Краснодарском крае (-1, или -2,4%), в Волгоградской области (-4, или -21%), в Санкт-Петербурге (-9, или -40,9%), в Новосибирской области (-3, или -15%), в Иркутской области (-2, или -25%), в Челябинской области (-1, или -14,3%), в Нижегородской области (-2, или -20%), в Республике Татарстан (-3, или -33,3%). Суммарно снижение органного донорства в этих регионах составило 32 посмертных донора.

В 2013 году продолжилось расширение практики констатации смерти мозга. Абсолютное число эффективных доноров с диагнозом «смерть мозга» увеличилось до 304 (в 2012 г. – 291), а их доля в общем пуле эффективных доноров составила 72,4% (в 2012 г. – 70,6%), рис. 2.

По регионам этот показатель широко варьировал – от 14,3 до 100%, при этом 9 донорских программ работали только с донорами с диагнозом «смерть мозга» (100%), в том числе новые донорские программы в Алтайском крае и Саратовской области (3 и 4 донора с ДСМ соответственно). Расширение практики диагностики смерти мозга имело место в Москве (+25), в Кемеровской области (+2), в Омской области (+3), в Республике Башкортостан (+3).

В 2013 году всего было выполнено 222 мультиорганных изъятия, что больше, чем в 2012 г. (195); доля мультиорганных изъятий увеличилась до 52,9% (+5,6%). Расширение практики мультиорганных изъятий имело место в Москве (+34), в Кемеровской области (+3), в Республике Татар-



**Рис. 2. Структура эффективных доноров органов в РФ в 2006–2013 гг.**

стан (+2). В Алтайском крае (Барнаул) в первый же год работы программы из 3 эффективных доноров все 3 были реализованы как мультиорганные. Центр органного донорства ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России выполнил в 2013 г. 5 мультиорганных изъятий (83,3%) при общем числе эффективных доноров 6.

Вклад донорских программ Москвы и Московской области по числу мультиорганных доноров составил 120, или 54% от общего числа мультиорганных доноров в стране (от 222); в 2012 г. – 91, или 46,7% (от 195).

Среднее количество органов, полученное от одного донора, увеличилось до 2,6 (в 2012 г. – 2,5). Лучшие значения этого показателя наблюдались, как и прежде, в регионах, где проводится трансплантация экстраренальных органов – в Москве (3,1) и Московской области (2,8), Свердловской области (2,9), Нижегородской области (2,9), Ленинградской области (2,8). Низкий показатель – менее 2,0 – зафиксирован в Волгоградской области (1,9), Иркутской области (1,8), Омской области (1,6), Самарской области (1,9), Саратовской области (1,0) – в регионах, где выполняется только лишь пересадка почки и отсутствует межрегиональная координация.

В 2013 г. показатель использования донорских почек составил 88,9% от количества изъятых (в 2012 г. – 90,5%). В 13 регионах этот показатель находился в оптимальном диапазоне значений 90–100%, в четырех – между 80–90% и в трех программах составил менее 80% (Краснодарский край – 78%, в 2012 г. – 72,6%; Новосибирская область – 76,5%, в 2012 г. – 85%; Саратовская область – 50%).

В 2013 году число изъятий органов от живых родственников доноров составило 307, или 42% от общего числа изъятий (в 2012 г. – 299, или 42%).

Таким образом, в 2013 г. донорская активность в РФ стабилизировалась на уровне 2012 г., после ее снижения на 10–15% в 2011–2012 гг. по сравнению с 2010 г. При этом показатели донорской активности по регионам не имеют общего тренда, где-то наблюдается ее рост, а где-то продолжается снижение и стагнация.

Таблица 5

## Донорская активность в регионах РФ в 2013 году

Регион	Центр координации органного донорства / центр трансплантации, регион	Население (млн)	Число донорских баз	Эффективные доноры (абс., на 1 млн населения)		В т. ч. с диагнозом «смерть мозга» (абс., %)		В т. ч. мультиорганные доноры (абс., %)		Всего заготовлено и пересажено органов	В т. ч. заготовлено и пересажено почек	Коэффициент «количество органов / количество доноров»	Процент пересаженных почек
				3	4	5	6	7	8				
Москва	Московский координационный центр органного донорства, Москва (ГБУЗ «Городская клиническая больница № 11» ДЗМ)	12,0	17	125	10,4	101	80,8	89	71,2	382	218	3,1	87,2
Московская обл.	ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва	7,0	39	56	8,0	32	57,1	31	55,4	159	108	2,8	96,4
	ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва												
	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва												
Белгородская обл.	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород	1,5	1	1	0,7	1	100,0	1	100,0	3	2	3,0	100,0
Воронежская обл.	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж	2,3	3	6	2,6	6	100,0	1	16,7	12	12	2,0	100,0

## Продолжение таблицы 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
Краснодарский край	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	5,3	1	41	7,7	41	100,0	27	65,9	108	64	2,6	78,0
Волгоградская обл.	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский	2,6	15	15	5,8	7	46,7	0	0,0	28	28	1,9	93,3
Санкт-Петербург	Центр органного и тканевого донорства, Санкт-Петербург (ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе»)	5,0	10	13	2,6	9	69,2	8	61,5	30	21	2,3	80,8
Ленинградская обл.	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург	1,7	1	10	5,9	10	100,0	10	100,0	28	19	2,8	95,0
Новосибирская обл.	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	2,7	4	17	6,3	15	88,2	14	82,4	44	26	2,6	76,5
Кемеровская обл.	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово	2,7	10	26	9,6	6	23,1	5	19,2	55	49	2,1	94,2
Иркутская обл.	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск	2,4	3	6	2,5	4	66,7	0	0,0	11	11	1,8	91,7
Омская обл.	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск	2,0	4	14	7,0	3	21,4	0	0,0	23	23	1,6	82,1
Алтайский край	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул	2,4	1	3	1,3	3	100,0	3	100,0	8	4	2,7	66,7
Свердловская обл.	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург	4,3	3	18	4,2	18	100,0	13	72,2	53	34	2,9	94,4
Челябинская обл.	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск	3,5	1	6	1,7	6	100,0	1	16,7	14	12	2,3	100,0
Самарская обл.	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара	3,2	5	21	6,6	3	14,3	0	0,0	40	40	1,9	95,2

## Окончание таблицы 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
Саратовская обл.	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов	2,5	1	4	1,6	4	100,0	0	0,0	4	4	1,0	50,0
Нижегородская обл.	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород	3,3	1	8	2,4	7	87,5	7	87,5	23	16	2,9	100,0
Республика Татарстан	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	3,8	11	6	1,6	6	100,0	3	50,0	15	12	2,5	100,0
Республика Башкортостан	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа	4,1	5	18	4,4	17	94,4	4	22,2	36	32	2,0	88,9
Ведомственная программа ФМБА России	ФГБУ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва		22	6		5	83,3	5	83,3	17	12	2,8	100,0
ИТОГО		143,3	158	420	2,9	304	72,4	222	52,9	1093	747	2,6	88,9

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ

В 2013 году всего было выполнено 935 трансплантаций почки (6,5 на 1 млн населения). Это примерно соответствует уровню прошлого 2012 г. – 941 (6,6 на 1 млн населения), но меньше, чем в 2011 г. (975, или 6,9 на 1 млн населения) и в рекордном 2010 г. (1037, или 7,3 на 1 млн населения), рис. 3.

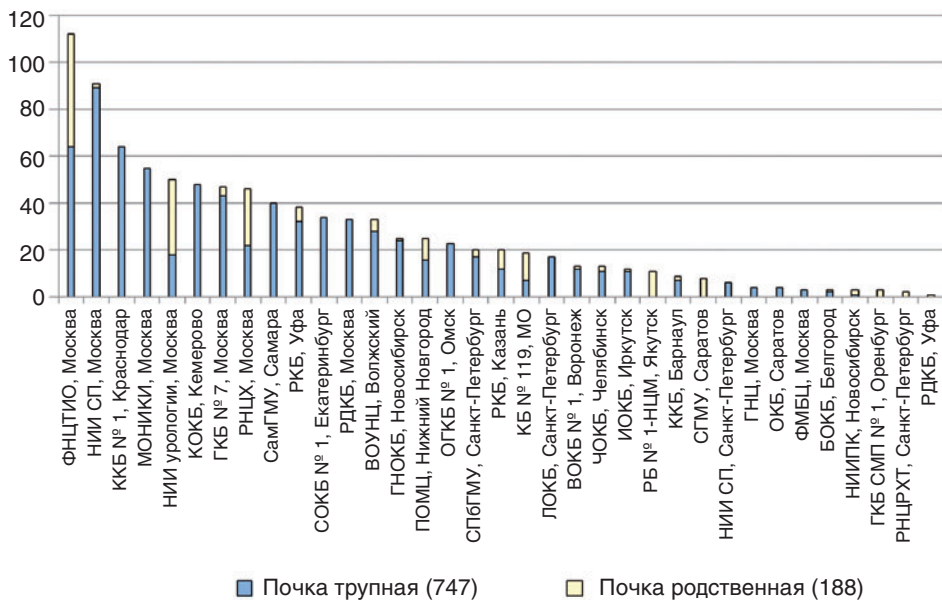
Число трансплантаций трупной почки в 2013 г. осталось на уровне 2012 г. – 747, или 5,2 на 1 млн населения (в 2012 г. – 746). Таким образом, в 2013 г. снижение числа трансплантаций почки в РФ, наблюдавшееся в 2012 г. (–50, или –6,3% в сравнении с 2011 г.; –121, или –13,9% в сравнении с 2010 г.), сохранилось, но не продолжилось. Число трансплантаций почки от живого родственного донора составило 188, что несколько меньше, чем в 2012 г. (195), но больше, чем в 2011 г. (179) и в 2010 г. (170).

В 2013 г. были открыты 3 новые программы трансплантации почки: в ФГБУ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России (Москва), в КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (Барнаул) и в ГУЗ «Областная клиническая больница» (Саратов).

Активность центров трансплантации почки в 2013 г. традиционно широко варьировала от 1 до 112 операций в год. В 2013 г. 5 центров выполнили более 50 операций каждый, от 30 до 50 операций за год выполнили 8 центров, еще 7 центров выполнили от 15 до 30 операций, остальные 15 центров – менее 15 трансплантаций почки (рис. 4).



**Рис. 3. Трансплантация почки в РФ в 2006–2013 гг.**



**Рис. 4. Трансплантация почки в РФ в 2013 году (количество операций по центрам трансплантации почки)**

На долю центров трансплантации почки Москвы и Московской области, а всего их 10, приходится почти половина – 49,2% (460) от всех трансплантаций почки, выполняемых в стране (в 2012 г. – 437, или 46,4%).

Таблица 6  
Динамика посмертного донорства (числа эффективных доноров) в период 2006–2013 гг.

Регион	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2006–2013	
	Абс. число	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров
Москва	87	126	+39	135	+9	136	+1	151	+15	135	-16	111	-24	125	+14	125	+14	+38
Московская обл.	24	45	+21	59	+14	52	-7	71	+19	82	+11	61	-21	56	-5	56	-5	+32
Белгородская обл.	6	2	-4	8	+6	2	-6	0	-2	1	+1	6	+5	6	0	6	0	0
Воронежская обл.																		
Краснодарский край	5	0	-5	11	+11	3	+3	39	+36	52	+13	42	-10	41	-1	41	-1	+41
Волгоградская обл.	30	45	+15	47	+2	47	0	41	-6	34	-7	22	-12	13	-9	15	-2	+10
Санкт-Петербург	12	8	-4	11	+3	11	0	13	+2	10	-3	10	0	10	0	10	0	-2
Ленинградская обл.	17	11	-6	18	+7	29	+11	35	+6	25	-10	20	-4	17	-3	17	-3	0
Новосибирская обл.	16	13	-3	18	+5	18	0	22	+4	12	-10	26	+14	26	0	26	0	+10
Кемеровская обл.																		
Иркутская обл.																		
Омская обл.	10	15	+5	13	-2	19	+6	19	0	14	-5	11	-3	14	+3	14	+3	+4
Алтайский край																		
Свердловская обл.	14	13	-1	12	-1	13	+1	14	+1	15	+1	14	-1	18	+4	18	+4	+4
Челябинская обл.																		
Самарская область	4	17	+13	24	+7	18	-6	20	+2	21	+1	19	-2	21	+2	21	+2	+17
Саратовская обл.																		
Нижегородская обл.																		
Республика Татарстан	3	3	+3	1	-2	3	+2	12	+9	16	+4	9	+7	6	-3	6	-3	+6
Республика Башкортостан																		
ФМБА России																		
ИТОГО в РФ	225	300	+75	364	+64	381	+17	487	+106	470	-17	412	-58	420	+8	420	+8	+195
			+33,3%		+21,3%		+4,7%		+27,8%		-3,5%		-12,3%		+1,9%		+1,9%	+86,7%

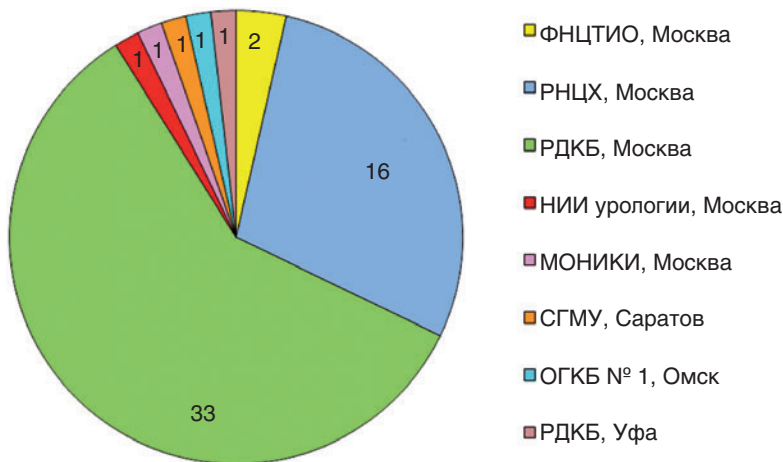


Из них 4 центра за год выполнили 50 и более трансплантаций почки – это ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (112), НИИ урологии (50), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (91) и МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (55). Еще 3 выполнили от 30 до 50 трансплантаций почки: РДКБ (33), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (46) и ГКБ № 7 (47).

В 2013 г. 23 центра из 33 выполняли родственные трансплантации почки, всего было проведено 188 трансплантаций (в 2012 г. – 195). Три центра выполнили 20 и более родственных трансплантаций почки: ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (48), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (24), НИИ урологии (32). Средняя частота использования прижизненного донорства почки в 2013 г. составила 20,1% (в 2012 г. – 20,7%).

На долю Москвы и Московской области приходится 6 центров, выполнивших в 2013 г. 122 родственные трансплантации почки, или 64,9% от общего числа родственных пересадок почки в России (в 2012 г. – 120, или 61,5%). Средняя частота использования прижизненного донорства почки в Москве и Московской области – 26,5%.

Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в 2013 г. выполнялись в 7 центрах, всего было проведено 57 трансплантаций почки (2012 г. – 57), из них 47 (82,4%) в Москве в РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского и в РДКБ (рис. 5).



**Рис. 5. Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в РФ в 2013 году**

Результаты 2013 г. свидетельствуют о том, что в РФ ежегодное число трансплантации почки стабилизировалось на уровне 6,5 на млн населения, имеются признаки стагнации. В частности, число трансплантаций почки даже в регионах-лидерах, с наиболее высокой донорской активностью (Москва, Московская область, Краснодар, Самарская область, Волго-

градская область и др.), в 2012 и 2013 гг. не изменилось или увеличилось незначительно. Не увеличивается и число родственных трансплантаций почки, выполняемых в год, остается на уровне 190 пересадок.

В такой ситуации основным инструментом для выхода из стагнации и дальнейшего роста числа трансплантаций почки в стране (в соответствии с реальной потребностью населения), на наш взгляд, может быть организация новых трансплантационных программ в субъектах РФ, где трансплантация почки до настоящего времени не выполнялась [6, 7].

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЭКСТРАРЕНАЛЬНЫХ ОРГАНОВ

В 2013 г. было выполнено всего 164 трансплантации сердца (1,1 на 1 млн населения), из них 2 пересадки детям (несовершеннолетним), что на 32 трансплантации (+24,2%) больше, чем в 2012 г., и на 58 (54,7%) больше, чем в 2011 г. (рис. 6).

Трансплантации сердца выполнялись в 10 центрах. В 2013 г. были открыты 3 новые программы трансплантации сердца: в ФГБУ «НИИ КП ССЗ» СО РАМН (Кемерово) сделано 5 пересадок; в ГАУЗ «Межрегиональный клиничко-диагностический центр» (Казань) – 2 пересадки; в ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер» (Уфа) – 2 пересадки.

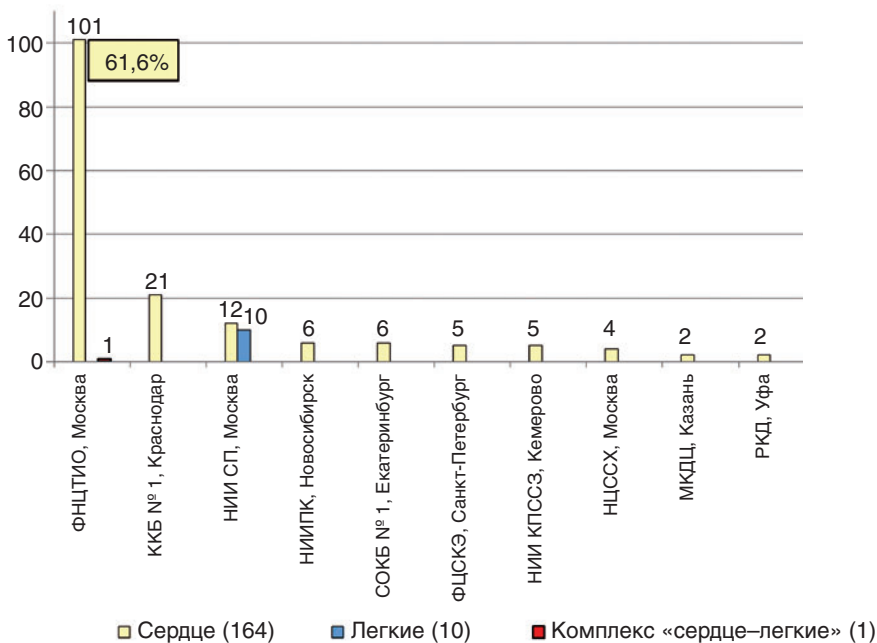


Рис. 6. Трансплантация торакальных органов в 2013 году

На долю ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва) приходится 74,3% (101) от общего числа трансплантаций сердца в РФ. Успешная программа трансплантации сердца в этом центре определяет общий положительный тренд увеличения числа пересадок сердца в стране в 2009–2013 гг.: ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва) +73 (+260,1%), РФ +118 (+256,5%).

В 2013 г. всего было выполнено 273 трансплантации печени (1,9 на 1 млн населения), что на 29 трансплантаций (+11,9%) больше, чем в 2012 г., и на 68 (33,3%) больше, чем в 2011 г. Трансплантации печени выполнялись в 15 центрах. В 2013 г. были открыты 2 новые программы трансплантации печени: в ГБУЗ «РКБ им. Г.Г. Куватова» (Уфа) сделано 2 пересадки; в ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины» (Якутск) – 2 пересадки.

Доля центров трансплантации Москвы и Московской области (4) в трансплантации печени в 2013 г. составила 68,7% (187 пересадок); в 2012 г. – 69,1% (168).

В 2013 г. 6 центров трансплантации выполнили 20 и более пересадок печени каждый: ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (90), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (20), ФМБЦ им. А.И. Бурназяна (41), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (36), ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского (21), ГНОКБ (22). На эти центры приходится 84,6% (230) от общего числа трансплантаций печени в РФ (рис. 7).

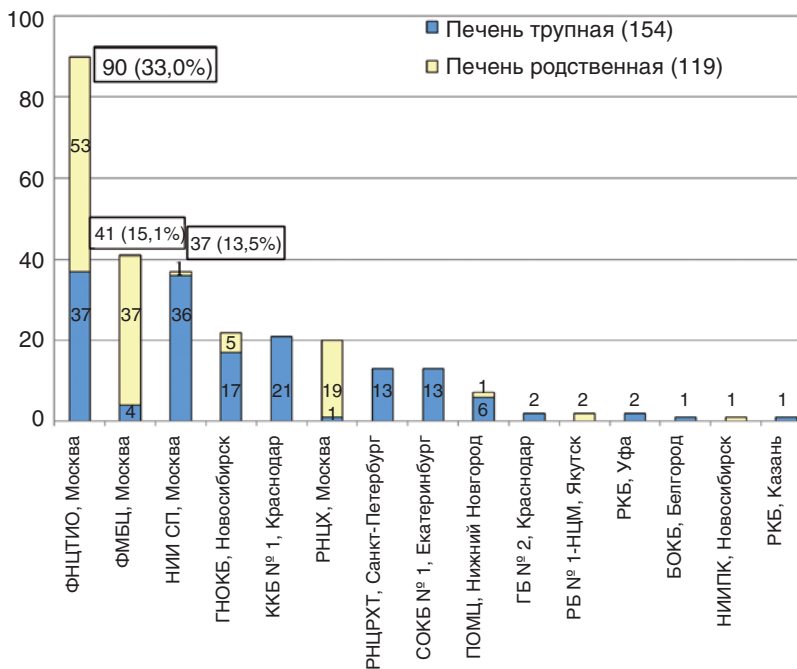


Рис. 7. Трансплантация печени в 2013 году

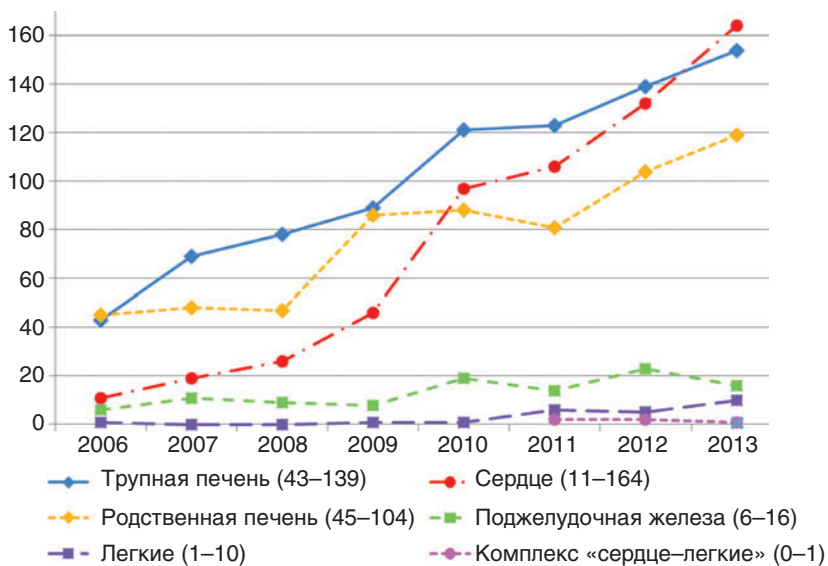
Родственные трансплантации печени осуществлялись в 8 центрах, доля трансплантаций от живых родственных доноров составила 43,7% (119). В 2012 г. было 4 центра, которые выполнили 104 родственных пересадки печени (42,8%).

В 2013 г. всего было выполнено 69 трансплантаций печени детям (в основном раннего возраста); в 2012 г. – 62. Трансплантации печени детям выполнялись в 2 центрах в Москве – в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (55) и в РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (14).

Трансплантации поджелудочной железы осуществлялись в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (5), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (8) и РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (3), всего было выполнено 16 трансплантаций (в 2012 г. – 23), из них 13 – одновременно с трансплантацией почки.

Число экстраренальных трансплантаций в 2013 г. составило 465, или 33,2% от общего числа трансплантаций (1340).

Таким образом, рост числа трансплантаций экстраренальных органов в РФ продолжается (рис. 8).



**Рис. 8. Трансплантация экстраренальных органов в 2006–2013 гг.**

Основным источником роста в 2013 г. выступили не новые программы трансплантаций в субъектах РФ (+4 пересадки), а повышение трансплантационной активности (в части пересадки экстраренальных органов) ведущими центрами страны, такими как ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (+18 пересадок) и ФМБЦ им. А.И. Бурназяна (+6 пересадок) в Москве, ГНОКБ (+8 пересадок) в Новосибирске; что, в свою очередь, стало возможным благодаря повышению эффективности донорских программ в этих регионах и межрегиональной координации.

Таблица 7

Трансплантация органов в России в период 2006–2013 гг.

Орган	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2006–2013	
	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	Изменение за период (абс.)	Изменение за период (%)
Почка всего	556	+110	782	+116	830	+48	1037	+207	975	-62	941	-34	935	-6	+379	68,2		
в т. ч. трупная	417	+110	637	+110	666	+29	867	+201	796	-71	746	-50	747	+1	+330	79,1		
от живого родственного донора	139	0	145	+6	156	+11	170	+14	179	+9	195	+16	188	-7	+49	35,2		
Печень всего	88	+29	125	+8	175	+50	209	+34	204	-5	243	+39	272	+29	+184	209,1		
в т. ч. трупная	43	+26	78	+9	89	+11	121	+32	123	+2	139	+16	154	+15	+111	258,1		
от живого родственного донора	45	+3	47	-1	86	+39	88	+2	81	-7	104	+23	119	+15	+74	164,4		
Сердце	11	+8	26	+7	46	+20	97	+51	106	+9	132	+26	164	+32	+153			
Поджелудочная железа	6	+5	9	-2	8	-1	19	+11	14	-5	23	+9	14	-9	+8			
Легкие	1	-1	0	0	1	+1	1	0	6	+5	5	-1	10	+5	+9			
Комплекс «сердце–легкие»									2	+2	2	0	1	-1	+1			
Тонкая кишка													1	+1	+1			
Всего	662	+151	942	+129	1060	+118	1363	+303	1307	-56	1345	+38	1400	+55	+738			
		+22,8%		+15,9%		+12,5%		+28,6%		-4,1%		+2,9%		+4,1%	+11,5%			

Вклад центров трансплантации Москвы и Московской области в трансплантацию экстраренальных органов остается определяющим и в 2013 г. составил 71,6% (333 пересадки); в 2012 г. – 67,1% (271).

В табл. 7 представлены данные о динамике числа трансплантаций органов в РФ за 2006–2013 гг.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В 2013 году в полной мере проявились успехи и проблемы отечественной трансплантологии последних лет, преимущества и недостатки в организации донорства и трансплантации органов, трансплантационной координации в субъектах РФ.

Вместе с тем ситуация по субъектам РФ по-прежнему сильно различается.

Действующие в РФ центры трансплантации расположены в 22 субъектах РФ. Две трети регионов страны собственных донорских и трансплантационных программ не имеют. По обеспеченности населения центрами трансплантации РФ отстает от стран Западной Европы и США в 2–3 раза. Рациональное число центров трансплантации для РФ, по нашей оценке, находится в диапазоне: 82–104 центра трансплантации почки, 52–64 центра трансплантации печени, 24–30 центров трансплантации сердца [7–9].

Число пациентов в листах ожидания трансплантации трупных органов в РФ, если учитывать численность населения, также в 3 раза меньше, чем в странах Западной Европы и США [6, 8, 9]. Очевидно, что число пациентов в листах ожидания трансплантации трупных органов в РФ год от года будет увеличиваться. Это связано с ростом потребности в трансплантации органов (в стране увеличивается число пациентов на диализе на 7–10% ежегодно), с увеличением числа трансплантаций органов, выполняемых в РФ. Кроме того, с принятием новых правовых актов, регулирующих данный вопрос, повышается дисциплина центров трансплантации по надлежащему ведению листов ожидания.

В 2013 г. уровень донорской активности в РФ составил 2,9 на млн населения, то есть он стабилизировался после снижения в 2011–2012 гг. на 10–15%. Безусловно, это низкий уровень донорской активности, недостаточный для удовлетворения реальной потребности населения РФ в трансплантации органов. Но значение данного показателя, рассчитанного для 20 субъектов РФ, где реализуются донорские программы, составляет уже 5,6 на млн населения, а в Москве, где на сегодняшний день организована самая эффективная в стране система трансплантационной координации, – 10,4 на млн населения. Одним из основных путей повышения уровня донорской активности в РФ должно быть открытие новых донорских программ в субъектах РФ, где донорство и трансплантация орга-

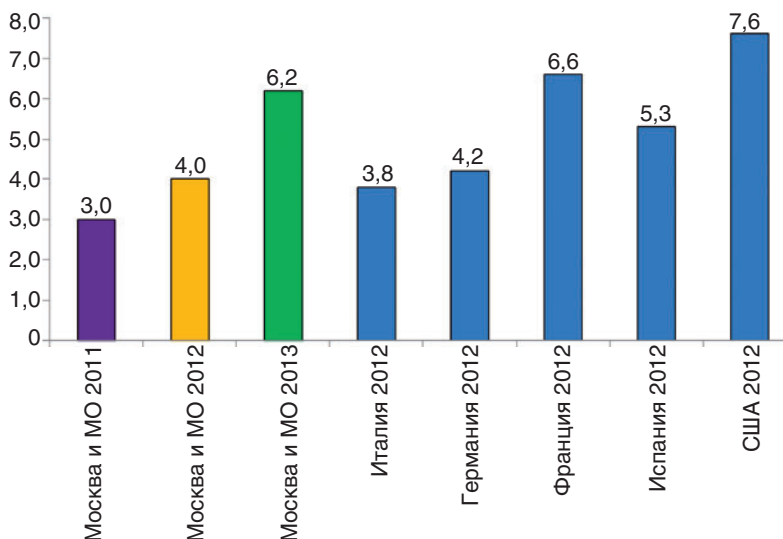
нов еще не организованы. При этом следует перенимать успешный опыт регионов-лидеров в трансплантологии, таких как Москва, Московская область, Краснодарский край, Кемеровская область, Самарская область, Республика Башкортостан, Новосибирская область.

Вызывает особую озабоченность кризис органного донорства, имеющий место в Санкт-Петербурге – регионе-мегаполисе с населением более 5 млн, на территории которого действует 5 центров трансплантации, освоены технологии пересадки почки, печени и сердца; имеется региональный центр координации органного донорства и утверждены медико-экономические стандарты, и работы по донорству оплачиваются. Динамика числа эффективных доноров в Санкт-Петербурге за 5 последних лет удручает: 2009 г. – 47; 2010 г. – 41; 2011 г. – 34; 2012 г. – 22; 2013 г. – 13, итого – 72,3%. Считаем, что донорская программа в Санкт-Петербурге, пребывающая в кризисе, должна быть реанимирована в приоритетном порядке.

Показатель трансплантаций почки в РФ в 2013 г. стабилизировался на уровне 6,5 на млн, имеет признаки стагнации, тогда как потребность в трансплантации почки в стране и по листу ожидания (более 4000), и по числу пациентов на диализе (не менее половины от 26 000) значительно выше и продолжает расти. Выход из стагнации с динамикой роста числа трансплантаций почки в 1,5–2 раза и более, на наш взгляд, возможен только при условии открытия новых донорских программ в субъектах РФ.

Из успехов и достижений следует, конечно же, отметить устойчивое повышение эффективности донорских программ в РФ. С 2006 г. доля диагноза «смерть мозга» у посмертных доноров выросла более чем в 2 раза, число мультиорганных доноров увеличилось в 3,7 раза. Среднее число органов от одного эффективного донора за период наблюдения выросло с 2,2 до 2,6. Повышение эффективности донорских программ позволило на фоне уменьшения абсолютного числа эффективных доноров в 2011 и 2012 гг. (на 10–15%) сохранить на прежнем уровне число трансплантаций органов, более того, число трансплантаций печени и сердца в РФ за период 2011–2013 гг. увеличилось на 33,3 и 54,7% соответственно.

Заслуживает внимания и высокой оценки развитие донорства и трансплантации органов в Московском регионе (Москва и Московская область). Это «локомотив» развития отечественной трансплантологии, научно-практический кластер, в котором функционирует четверть центров трансплантации страны, выполняется половина всех трансплантаций почки, примерно 70% всех пересадок печени и сердца, наиболее эффективно организовано донорство и трансплантационная координация. Обеспеченность населения Московского региона медицинской помощью по трансплантации сердца по итогам 2013 г. не уступает уровню стран Западной Европы и США (рис. 9).



**Рис. 9. Обеспеченность населения Москвы и Московской области медицинской помощью по трансплантации сердца в сравнении со странами Западной Европы и США**

Не теряет своей актуальности вопрос совершенствования законодательства и методического обеспечения в сфере донорства и трансплантации органов. В 2013 г. Минздрав России продолжил работу по подготовке нового федерального закона «О донорстве органов, частей органов человека и их трансплантации».

В 2013 г. по поручению Минздрава России профессиональным медицинским сообществом (под эгидой Российского трансплантологического общества) были разработаны и утверждены 11 клинических рекомендаций (протоколов) по профилю «трансплантация», все они доступны в сети интернет на странице Российского трансплантологического общества: [http://www.transpl.ru/about\\_center/rto/](http://www.transpl.ru/about_center/rto/)

Тем самым в РФ в дополнение к системе стандартов медицинской помощи по трансплантации и профильным порядкам медицинской помощи по трансплантации (№ 567н), по анестезиологии и реаниматологии (№ 919н), по медицинской помощи при остром нарушении мозгового кровообращения (№ 928н), имеющим медико-экономический и организационный характер, была создана методическая база для собственно клинической работы трансплантологов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С. Тенденции развития органно-го донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2008 гг.



- I сообщение (по данным регистра Российского трансплантологического общества) // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2009. – Т. XI, № 3. – С. 8–16.
2. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2009 году. II сообщение регистра Российского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. Т. XII, № 3. – С. 6–15.
  3. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С.* Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 гг. III сообщение регистра Российского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2011. – Т. XIII, № 2. – С. 6–20.
  4. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 г. IV сообщение регистра Российского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2012. – Т. XIV, № 3. – С. 6–18.
  5. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2012 г. (V сообщение регистра Российского трансплантологического общества) // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 8–22.
  6. *Готье С.В., Хомяков С.М.* Оценка потребности населения в трансплантации органов, донорского ресурса и планирование эффективной сети центров трансплантации // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 11–24.
  7. *Готье С.В., Хомяков С.М.* Обоснование рационального числа центров трансплантации и донорских баз в Российской Федерации, их географии и номенклатуры // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 5–15.
  8. International figures on donation and transplantation – Newsletter transplant. September 2012. – Vol. 17, № 1. – P. 33–64.
  9. International figures on donation and transplantation – Newsletter transplant. September 2013. – Vol. 18, № 1. – P. 35–62.



---

### **III. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

---



---

# **ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ОРГАНОВ**

---

# **БИОХИМИЧЕСКИЕ, БИОФИЗИЧЕСКИЕ, ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОРАЖЕНИЯ И ОБРАТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА ПРИ ЗАСТОЙНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА**

**(по материалам промежуточного отчета  
о научно-исследовательской работе)**

*Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Попцов В.Н., Шумаков Д.В.*

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

---

**Терминальная стадия застойной сердечной недостаточности, дилатационная кардиомиопатия, трансплантация сердца, коллатеральный коронарный кровоток, ремоделирование ишемизированного миокарда, кардиоресинхронизирующая терапия.**

---

**Объект исследования:** больные сердечной недостаточностью различного генеза (идиопатическая и ишемическая кардиомиопатия) высокого функционального класса (III–IV по NYHA), находящиеся на лечении с использованием реваскуляризации миокарда методом коронарной ангиопластики, кардиоресинхронизирующей терапии; реципиенты сердца на госпитальном этапе лечения и выписанные из клиники ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» в различные сроки после трансплантации сердца.

**Цель работы.** Исследовать механизмы ремоделирования миокарда левого желудочка сердца в результате реваскуляризации при ишемической кардиомиопатии и васкулопатии сердечного трансплантата. Оценить факторы, определяющие эффективность кардиоресинхронизирующей терапии при застойной сердечной недостаточности.

**Степень внедрения:** клиническая практика отделений ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России; постдипломное образование врачей в циклах, касающихся лечения больных с рефрактерной к медикаментозной терапии застойной (критической) сердечной недостаточностью и клиническое наблюдение пациентов после трансплантации сердца.

**Эффективность:** оптимизация протокола наблюдения и лечения больных застойной сердечной недостаточностью и реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации.

## ВВЕДЕНИЕ

Застойная сердечная недостаточность остается серьезной, во многом нерешенной проблемой современной медицины. Наиболее радикальным методом лечения пациентов с данной патологией является трансплантация сердца. В этом направлении достигнуты определенные результаты. Существенно выросло количество операций пересадки сердца, расширился пул доноров, растет число центров трансплантации. Однако проблема донорства, вероятно, не может быть решена полностью в обозримом будущем, поэтому не теряет актуальности вопрос развития альтернативных методов лечения застойной сердечной недостаточности [1, 2].

Потенциально реваскуляризация миокарда у пациентов с его выраженной дисфункцией ишемического генеза может улучшать прогноз заболевания по нескольким причинам. Дисфункциональный, но жизнеспособный миокард (гибернарующий [3] или оглушенный [4]) может восстанавливать свою функцию в ответ на восстановление кровоснабжения – реваскуляризацию. Гибернарующий миокард – это нефункционирующие по причине недостаточного кровоснабжения кардиомиоциты, способные восстанавливать свою сократительную способность при улучшении перфузии. При этом в ответ на улучшение кровоснабжения гибернарующие клетки восстанавливают свою функцию только через определенное время. Так, примерно 2/3 от общего числа миоцитов, находящихся в состоянии гибернации, функционально восстанавливается спустя 14 месяцев и более после реваскуляризации [5]. Имеются данные, что в гибернарующих кардиомиоцитах может запускаться апоптоз, поэтому ранняя реваскуляризация потенциально может предупредить необратимую дисфункцию. Оглушенный миокард определяется как дисфункциональный по причине транзиторной (преходящей) ишемии и в отличие от гибернарующего способен восстанавливать свою функцию в ответ на реваскуляризацию значительно быстрее. На практике различия между гибернацией и оглушением стерты, и по-видимому, оба этих механизма дисфункции способны развиваться в одном сердце, определяя его систолическую дисфункцию, ремоделирование и развитие сердечной недостаточности. Важная роль придается в настоящее время оценке функциональных показателей, отражающих состояние миокарда, в ранней диагностике васкулопатии сердечного трансплантата [6].

Оценка выраженности ремоделирования миокарда в результате его реваскуляризации при ишемической кардиомиопатии, а также оценка эффективности использования кардиоресинхронизирующей терапии у пациентов с застойной сердечной недостаточностью ишемического и неишемического генеза направлены на улучшение результатов оказания медицинской помощи большому числу пациентов, как имеющих призна-

ки застойной недостаточности, так и тем, кому операция трансплантации сердца успешно выполнена, но в позднем посттрансплантационном периоде осложнилась васкулопатией трансплантата.

На первом этапе настоящего исследования в 2012 году изучали молекулярные механизмы поражения миокарда при ишемической болезни сердца и дилатационной кардиомиопатии для обоснования возможности его обратного ремоделирования. Определено участие воспаления, апоптоза и иннативного иммунитета в патогенезе застойной сердечной недостаточности и обосновано использование указанных биомаркеров как индикаторов тяжести сердечной недостаточности и оценки эффективности лечения. Охарактеризованы изменения макромолекулярной структуры кардиомиоцитов, типичные для дилатационной кардиомиопатии. Установлено участие вирусной инфекции в негативном ремоделировании миокарда у реципиентов трансплантированного сердца. Доказано участие поражения микроциркуляторного русла в процессах негативного ремоделирования миокарда при сердечной недостаточности.

Целью следующего этапа, выполняемого в 2013 году, были исследование механизмов ремоделирования миокарда левого желудочка сердца в результате реваскуляризации при ишемической кардиомиопатии и васкулопатии сердечного трансплантата; оценка факторов, определяющих эффективность кардиоресинхронизирующей терапии при застойной сердечной недостаточности.

### **Задачи исследования**

1. Оценить диастолическую функцию левого желудочка (ЛЖ) в различные сроки после трансплантации сердца (ОТТС). Выявить связь между выраженностью диастолической дисфункции ЛЖ и наличием ангиографических признаков болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС). Оценить возможность использования показателей диастолической дисфункции ЛЖ в определении выраженности патологических изменений сердечного трансплантата, вызванных васкулопатией.
2. Определить влияние полноты реваскуляризации сердца при ишемической кардиомиопатии на уровень функционального ремоделирования миокарда и оценить влияние фактора выраженности коллатерального кровоснабжения в бассейне окклюзированных артерий на состояние миокарда.
3. Определить факторы, влияющие на степень ремоделирования миокарда при использовании кардиоресинхронизирующей терапии у больных с хронической сердечной недостаточностью, резистентной к медикаментозной терапии.



## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В 2013 году проведен анализ данных, полученных при наблюдении и лечении 137 пациентов в терминальной стадии сердечной недостаточности (СН) и 57 реципиентов сердца.

Обследовано 137 больных СН III–IV функционального класса по классификации сердечной недостаточности Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA), в возрасте от 18 до 73 лет (средний возраст составил  $52,5 \pm 11,5$  года), из них 121 мужчина и 16 женщин. У 46 пациентов причиной СН была дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 91 пациента – ишемическая кардиомиопатия (ИКМП).

Кроме того, обследовано 57 пациентов, перенесших ТС, в возрасте от 16 до 65 лет (средний возраст составил  $47,5 \pm 10,1$  года), 47 мужчин и 10 женщин. У 35 реципиентов до трансплантации сердца была ДКМП, у 22 реципиентов – ИКМП.

Основные методы исследования: сбор анамнеза, осмотр, общеклинические и биохимические лабораторные исследования, электро-, эхокардиографическое исследования, электрокардиографическое мониторирование, рентгенологическое исследование грудной клетки, коронароангиография, вентрикулография, сцинтиграфия миокарда, инвазивные методы оценки центральной гемодинамики и легочного сопротивления, биопсия миокарда, патоморфологические, иммуногистохимические, статистическая обработка данных.

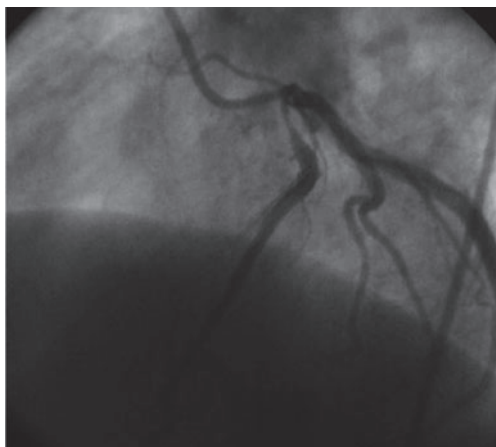
Используемые средства, материально-техническое оснащение: история болезни стационарного больного, медицинская аппаратура – электрокардиографы, аппараты для ультразвукового исследования, рентгеновский аппарат, компьютерный и ядерномагнитнорезонансный томографы, ангиографические установки, холтер-мониторы, хирургический инструментарий, дыхательная аппаратура, аппарат искусственного кровообращения, лабораторное оборудование, мониторы центральной гемодинамики, аппарат для внутриаортальной баллонной контрпульсации, центрифужные насосы крови, биохимический анализатор, микроскопы световой и люминесцентный, микротом-криостат; персональные компьютеры, лицензионное статистическое программное обеспечение.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

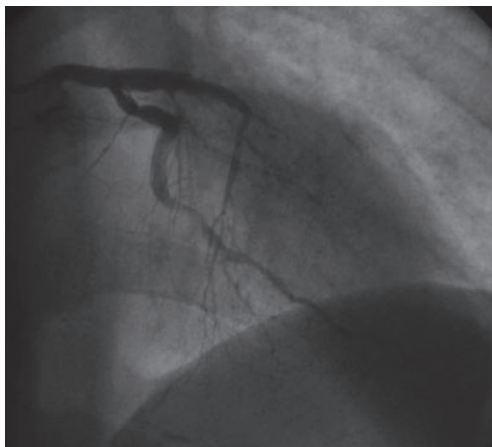
### **Исследование диастолической дисфункции сердечного трансплантата в процессе развития васкулопатии**

В процессе наблюдения пациентов были проанализированы 187 коронарограмм, полученных в результате комплексного обследования, включающего, в том числе, функциональные исследования. У 23 пациентов

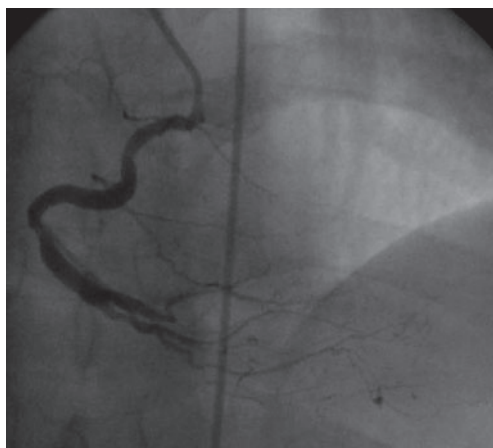
(40,4%) по данным коронарографии на различных этапах после ОТТС выявлено стенозирующее поражение коронарных артерий пересаженного сердца. В 19 случаях изменения были отнесены к типу А (стенозы 70% и более преимущественно проксимальных сегментов коронарного русла), который позволяет выполнить эндоваскулярную реваскуляризацию миокарда (рис. 1), в 4 случаях наблюдали тип С, который характеризовался распространенным окклюзирующим поражением преимущественно дистального русла (рис. 2 и 3).



**Рис. 1.** Пациентка Ж. 24 года. Три года после ОТТС. Стеноз 90% проксимального сегмента передней межжелудочковой ветви



**Рис. 2.** Пациент С. 31 год. После ОТТС – 4,5 года. Облитерация дистального русла левой коронарной артерии



**Рис. 3.** Пациент С. 31 год. После ОТТС – 4,5 года. Облитерация дистального русла правой коронарной артерии

Интервал времени между ОТТС и ангиографическими проявлениями болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) колебался от 12 до 180 месяцев (в среднем  $63,4 \pm 8$  месяцев). Динамическое многолетнее наблюдение позволило выявить изменения функциональных показателей левого желудочка сердечного трансплантата при развитии ангиографических признаков васкулопатии. Сформированы две группы данных: одна объединяет результаты обследования пациентов до появления ангиографических признаков БКАПС, вторая представляет данные функциональных и радиоизотопных исследований при наличии ангиографических признаков БКАПС. В данное исследование не включали результаты обследования при наличии признаков реакции отторжения трансплантата клеточного или гуморального типов.

Анализ результатов эхокардиографических исследований показал увеличение конечно-систолических объемов (КСО) при развитии БКАПС и умеренное снижение фракции изгнания левого желудочка (ФИ ЛЖ). Установлено, что наиболее информативными в выявлении особенностей функционирования ЛЖ трансплантированного сердца, при развитии коронарной ангиопатии, являются ультразвуковые и радиоизотопные методы, отражающие механическую активность миокарда и скоростные параметры диастолической фазы сердечного цикла (табл. 1 и 2).

Таблица 1

**Изменения диастолической функции ЛЖ при поражении коронарных артерий трансплантата по данным доплеровского метода исследования митрального потока**

ЭхоКГ-показатели	До изменений в КАПС (n = 42)	При поражении КАПС (n = 23)	P
VE м/с	$0,89 \pm 0,31$	$0,42 \pm 0,28$	<0,05
VA м/с	$0,51 \pm 0,27$	$0,73 \pm 0,23$	>0,05
Отношение VE/VA	$1,7 \pm 0,23$	$0,56 \pm 0,19$	<0,05

*Примечание.* VE – скорость раннего диастолического наполнения; VA – скорость позднего диастолического наполнения; КАПС – коронарные артерии пересаженного сердца.

Таблица 2

**Изменения показателей систолической и диастолической функции ЛЖ по данным радиоизотопной вентрикулографии**

Показатели	До изменений в КАПС (n = 35)	При поражении КАПС (n = 20)	P
ФИ %	$65,16 \pm 8,2$	$54,35 \pm 7,6$	<0,05
МСИ мл/сек	$340,71 \pm 94,4$	$282,65 \pm 81,8$	<0,05
ФН % за 1/3 диастолы	$36,56 \pm 5,4$	$27,6 \pm 4,2$	<0,05

*Примечание.* ФИ – фракция изгнания; МСИ – максимальная скорость изгнания; ФН – фракция наполнения ЛЖ; КАПС – коронарные артерии пересаженного сердца.

Из представленных данных следует, что вызванная БКАПС ишемия миокарда изменяет скоростные характеристики потока крови в различные фазы диастолы, однако сохраняет при этом главный показатель диастолы – объем заполнения ЛЖ. Тип трансмитрального диастолического спектра соответствует нарушению расслабления ЛЖ, характерного для ишемии миокарда. Функциональные критерии, определяющие состояние миокарда ЛЖ трансплантата, достоверно показывают нарушение диастолической функции ЛЖ в процессе развития васкулопатии. Характер этих изменений отражает, по современным представлениям, выраженность ишемии миокарда (7). Показатели диастолической дисфункции ЛЖ могут использоваться в качестве количественных критериев выраженности патологических изменений сердечного трансплантата, вызванных васкулопатией.

### **Исследование влияния объема реваскуляризации сердца на функциональное состояние миокарда при ишемической кардиомиопатии**

Обследованы до и после коронарной ангиопластики 61 мужчина и 5 женщин в возрасте от 46 до 73 лет с диагнозом «ишемическая кардиомиопатия» (КДО ЛЖ –  $256,1 \pm 7,4$  мл, ФВ ЛЖ –  $36,1 \pm 1,1\%$ ). При поступлении 46 пациентов имели 4 ФК ХСН по NYHA, 20 – 3 ФК ХСН по NYHA. Шестиминутный тест –  $109,7 \pm 20,5$  м. Преобладающий тип поражения коронарного русла – окклюзии (92 из 176 эпикардиальных ветвей). С помощью эхокардиографии и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии оценивали динамику систолической и диастолической функции, изменение перфузии, утолщения и движения миокарда левого желудочка. Полную реваскуляризацию (восстановить кровоток по всем эпикардиальным ветвям) удалось выполнить 32 пациентам, неполную (не удалось восстановить антеградный кровоток в 1 эпикардиальной ветви) – 34 пациентам. Показано, что степень повреждения миокарда при терминальной стадии застойной сердечной недостаточности ишемического генеза варьирует в широких пределах и не связана напрямую с состоянием артерии, ответственной за кровоснабжение определенного сегмента сердечной стенки. Функциональные параметры сердца в группах полной реваскуляризации (восстановлена транспортная функция всех эпикардиальных ветвей) – 34 пациента – и неполной (не удалось восстановить проходимость 1 или 2 эпикардиальных ветвей) – 32 пациента – не различались (табл. 3), при том что в группе неполной реваскуляризации исходное количество окклюзий (25 окклюзий правой коронарной артерии – ПКА, 22 окклюзии огибающей ветви левой коронарной артерии – ОВ ЛКА, 20 окклюзий передней межжелудочковой ветви – ПМЖВ) более чем в 2 раза превышало этот показатель в группе полной реваскуляризации (6 окклюзий ПКА, 10 окклюзий ОВ ЛКА, 9 окклюзий ПМЖВ).

Таблица 3

**Морфофункциональные параметры пациентов  
перед проведением ЧКВ**

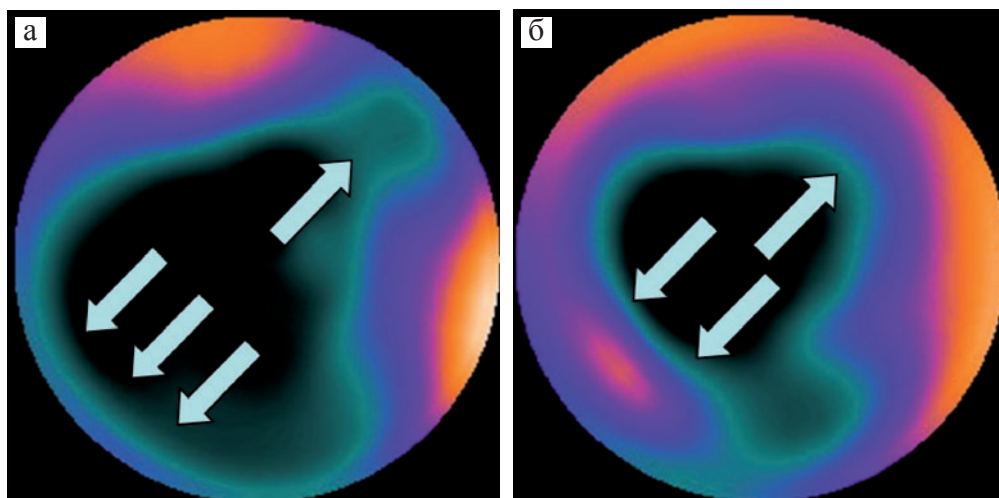
Параметры	Значение для группы полной реваскуляризации	Значение для группы неполной реваскуляризации
КДО ЛЖ (мл)	251,5 ± 7,8	260,2 ± 12,2
КСО ЛЖ (мл)	163,0 ± 7,9	159,5 ± 9,8
ФВ ЛЖ (%)	34,4 ± 1,8	37,6 ± 1,1
ФК по NYHA	3,6 ± 0,1	3,7 ± 0,1
6-минутный тест (м)	107 ± 30	113 ± 28
Степень регургитации на МК	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,15
Давление в легочной артерии (мм рт. ст.)	40,5 ± 2,4	37,8 ± 2,4
Общее нарушение перфузии в %	51 ± 4,4	56 ± 4,6
Общее нарушение систолического утолщения (%)	23 ± 2,4	20 ± 2,4
Общее нарушение движения (%)	44 ± 4,6	37 ± 4,4

*Примечание.* Везде  $p > 0,05$ .

Более того, в группе неполной реваскуляризации 2/3 пациентов имели хроническую тотальную окклюзию ПМЖВ. В группе полной реваскуляризации только 28% пациентов были с подобным поражением. Степень нарушения кинетики (в баллах) в данном бассейне была обратной:  $33,9 \pm 3,8$  и  $42,5 \pm 4,6$  ( $p < 0,05$ ). Фактор выраженности коллатерального кровоснабжения в бассейне окклюзированных артерий в последней группе, вероятно, более значим и компенсирует нарушение антеградного кровотока.

Клинический эффект реваскуляризации миокарда у пациентов с выраженной систолической дисфункцией левого желудочка сердца определяется снижением степени ишемии функционирующей сердечной мышцы (8). Прирост фракции выброса (ФВ) ЛЖ отражает увеличение силы сокращения, снижение максимальной скорости наполнения за вторую половину диастолы указывает на восстановление диастолической функции сердца и снижение диастолической жесткости миокарда ЛЖ. Улучшение кровоснабжения живого, гиперфункционирующего миокарда путем восстановления антеградного и увеличения ретроградного кровотока позволяет изменить в лучшую сторону гемодинамическую ситуацию (уменьшить объемы, степень регургитации, улучшить диастолическую функцию) и таким образом значительно увеличить функциональный резерв сердца. Эффект коронарной ангиопластики ассоциируется с улучшением показателей гемодинамики в правых и левых отделах сердца, а также с повышением уровня функционального состояния миокарда.

Клинический результат коронарной ангиопластики у больных ИКМП с явлениями сердечной недостаточности III–IV ФК не зависит от полноты восстановления коронарного русла и исходного уровня общего нарушения перфузии миокарда. В данной ситуации наблюдается ремоделирование прежде всего функционирующего миокарда, способного ответить на увеличение кровотока непосредственно после реваскуляризации (рис. 4).



**Рис. 4. Характер изменения перфузии миокарда ЛЖ в результате реваскуляризации: а – до ЧКВ (стрелками указано глубокое снижение перфузии в бассейне ПКА); б – после ЧКВ (стрелками указано улучшение перфузии в бассейне ПМЖВ и особенно в бассейне ПКА)**

Представленная на рис. 4 картина демонстрирует значимое восстановление перфузии миокарда в бассейне окклюзированной ПКА. Степень развития коллатерального кровотока и состояние дистального русла являются факторами сосудистого компонента, влияющими существенно на клинический результат вмешательства. Представленная когорта пациентов имеет тяжелое многоуровневое поражение сердечной мышцы в сочетании с изменениями коронарного русла, требующими разработки новых подходов к его восстановлению.

Одним из практически значимых фрагментов исследования явилось изучение характера и локализации участков ремоделирования миокарда у больных с хронической сердечной недостаточностью, находящихся на кардиоресинхронизирующей терапии.

## Исследование ремоделирования миокарда в результате кардиосинхронизирующей терапии

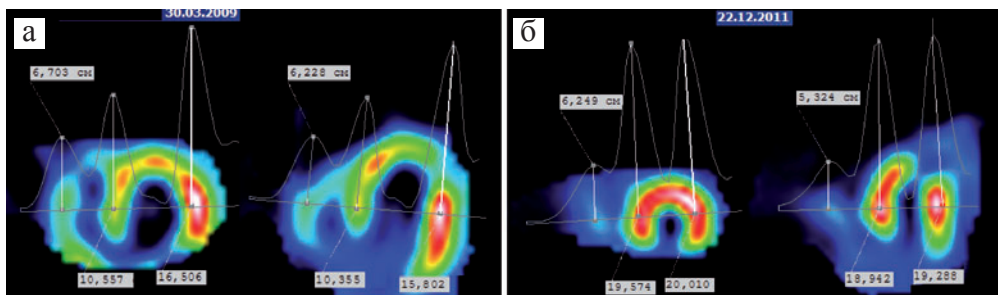
Для оценки жизнеспособности миокарда и определения локализации асинхронии миокарда у больных с хронической сердечной недостаточностью использована перфузионная однофонная эмиссионная компьютерная томосцинтиграфия, синхронизированная с ЭКГ, дополненная оригинальной программой обработки данных, являющейся совместной разработкой сотрудников Санкт-Петербургского государственного университета и ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова [9].

Обследован 71 пациент (61 мужчина и 10 женщин) с хронической сердечной недостаточностью. Средний возраст пациентов составил  $51,3 \pm 13,1$  года. У 40 (56,3%) пациентов была диагностирована дилатационная кардиомиопатия, у 1 (1,4%) пациента – гипертрофическая кардиомиопатия, у 25 (35,2%) – ишемическая кардиомиопатия. Выраженность хронической сердечной недостаточности, согласно Нью-Йоркской классификации кардиологов (NYHA), у 5 (7%) пациентов соответствовала II ФК, у 55 (77,46%) – III ФК, у 11 (15,49%) – IV ФК.

Диффузный кардиосклероз, замещая кардиомиоциты в стенке ЛЖ, определяет снижение эффективности кардиоресинхронизирующей терапии.

На перфузионной томосцинтиграмме миокарда это явление проявляется уменьшением радиоактивности в этих зонах (рис. 5). Снижение величины отношения радиоактивности боковой стенки левого желудочка к значению величины накопления радиоизотопа в боковой стенке правого желудочка у больных с хронической сердечной недостаточностью свидетельствует о выраженности кардиосклероза.

Установлено, что соотношение перфузии боковых стенок ПЖ и ЛЖ до имплантации кардиоресинхронизирующего устройства значительно



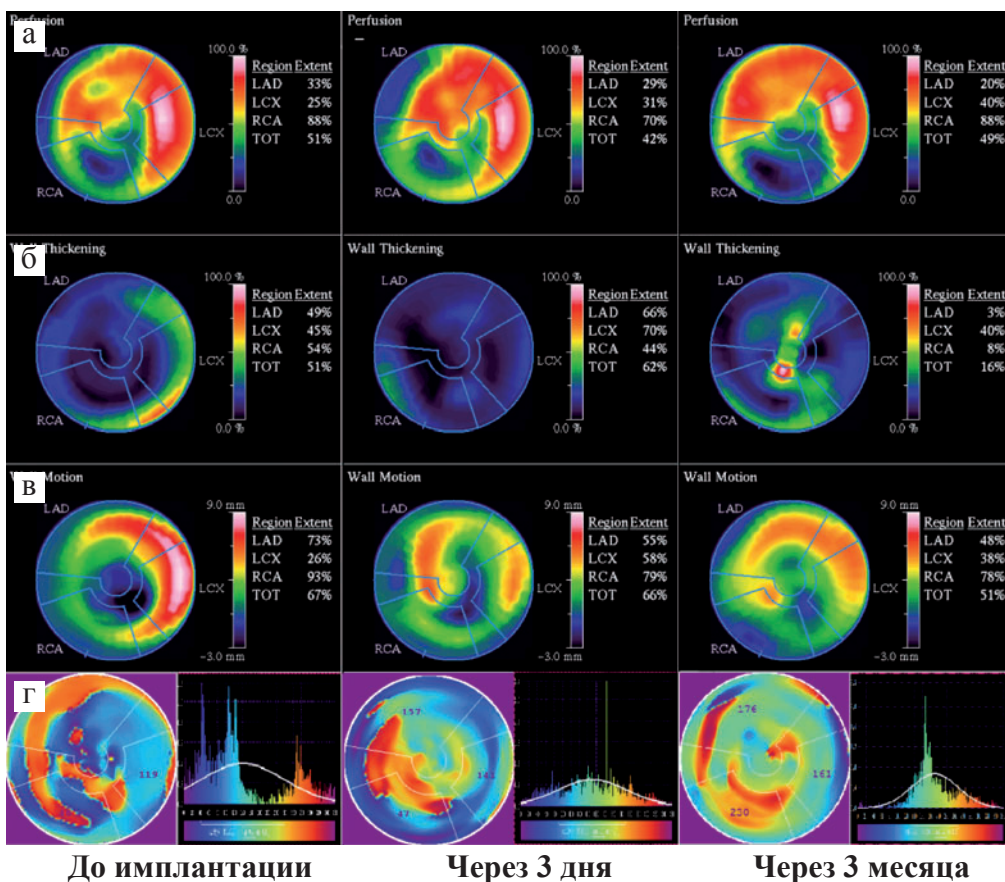
**Рис. 5. Изображение перфузии миокарда правого и левого желудочков сердца: а – до имплантации кардиоресинхронизирующего устройства; б – после имплантации кардиоресинхронизирующего устройства**

увеличено в пользу ЛЖ (рис. 5, а). Аналогичная тенденция сохраняется в отдаленном периоде после трансплантации (рис. 5, б).

Наиболее значимы при этом такие параметры, как систолическое утолщение миокарда, патологическая внутрижелудочковая асинхрония, соотношение уровня перфузии между боковыми стенками левого и правого желудочков.

На рисунке 6 представлены результаты перфузионной томосцинтиграфии миокарда до и после кардиоресинхронизирующей терапии.

На основании результатов исследования удалось установить, что именно жизнеспособность миокарда является тем критерием, который ограничивает возможности кардиоресинхронизирующей терапии.



**Рис. 6.** Сравнение региональных изменений перфузии (а), систолического утолщения (б), движения стенки (в) и внутрижелудочковой асинхронии (г) по результатам перфузионной томосцинтиграфии миокарда, синхронизированной с ЭКГ: до имплантации, через 3 дня и через 3 месяца после имплантации кардиоресинхронизирующего устройства



Предиктором неэффективности кардиоресинхронизирующей терапии является соотношение накопления радиофармпрепарата в боковой стенке ЛЖ по отношению к боковой стенке ПЖ менее 1,5. Данный показатель может служить дополнительным критерием отбора пациентов для постановки в лист ожидания на трансплантацию сердца. Выявлены прогностические факторы, позволяющие предсказать эффективность метода кардиоресинхронизирующей терапии в долгосрочном периоде. Фактором, продемонстрировавшим свою ценность для анализа динамики результатов кардиоресинхронизирующей терапии, стало систолическое утолщение миокарда ЛЖ, рассчитанное по результатам перфузионной томосцинтиграфии миокарда, синхронизированной с ЭКГ. Показатели перфузии и утолщения миокарда отражают его жизнеспособность и способность к обратному ремоделированию в результате бивентрикулярной электрокардиостимуляции. Для достоверного прогноза эффективности кардиоресинхронизирующей терапии при лечении застойной сердечной недостаточности как ишемической, так и идиопатической этиологии важную информацию дает перфузионная томосцинтиграфия миокарда, синхронизированная с ЭКГ.

## **ВЫВОДЫ**

1. Показатели диастолической дисфункции ЛЖ могут быть использованы при количественном определении выраженности патологических изменений миокарда сердечного трансплантата, вызванных васкулопатией.
2. Клинический результат коронарной ангиопластики у больных ИКМП с явлениями сердечной недостаточности III–IV ФК определяется функциональным ремоделированием миокарда и не зависит от полноты восстановления коронарного русла и исходного уровня общего нарушения перфузии миокарда.
3. Жизнеспособность миокарда и локализация патологической внутрижелудочковой асинхронии определяют способность миокарда к обратному ремоделированию и являются предикторами эффективности кардиоресинхронизирующей терапии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, резистентной к медикаментозной терапии.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Результаты исследования внедрены в клиническую практику отделений ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, используются для постдипломного обучения врачей в циклах, касающихся лечения больных с рефрактерной к медикаментозному лечению застой-

ной (критической) сердечной недостаточностью и клинического наблюдения пациентов после трансплантации сердца.

Данные о механизмах ремоделирования миокарда сердца и сердечного трансплантата будут использованы для уточнения показаний к трансплантации сердца, позволят оптимизировать протокол наблюдения и лечения больных застойной сердечной недостаточностью и реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации.

## Список используемых источников

1. Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН // Сердечная недостаточность. – 2010. – Т. 11, № 1 (57). – С. 13–14.
2. Guidelines on myocardial revascularization // Eur. J. Car-Thor. Surg. – 38. – S1 (2010) S1–552.
3. *Wijns W., Vatner S.F., Camici P.G.* Hibernating myocardium // N. Engl. J. Med. – 1998. – Vol. 339. – P. 173–181.
4. *Camici P.G., Prasad S.K., Rimoldi O.E.* Stunning, hibernation and assessment of myocardial viability // Circulation. – 2008. – Vol. 117. – P. 103–114.
5. *McMurray J.J.* Clinical practice: Systolic heart failure // N. Engl. J. Med. – 2010. – Vol. 362. – P. 228–238.
6. *Mehra M.R., Crespo-Leiro M.G., Dipchand A. et al.* International Society for Heart and Lung Transplantation working formulation of a standardized nomenclature for cardiac allograft vasculopathy–2010 // J. Heart Lung Transplant. – 2010. – Vol. 29. – P. 717–727.
7. *Агеев Ф.Т., Овчинников А.Г.* Давление наполнения левого желудочка: механизмы развития и ультразвуковая оценка // ЖСН. – 2012. – № 5. – С. 287–309.
8. *Schinkel A.F., Bax J.J., Delgado V., Poldermans D., Rahimtoola S.H.* Clinical relevance of hibernating myocardium in ischemic left ventricular dysfunction // Am. J. Med. – 2010 Nov. – Vol. 123 (11). – P. 978–986.
9. *Остроумов Е.Н., Котина Е.Д., Слободяник В.В. и др.* Синхронизированная с ЭКГ перфузионная томосцинтиграфия в оценке перфузии, функции и асинхронии миокарда левого желудочка при ресинхронизирующей терапии // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2009. – Т. 9, № 2. – С. 37–42.

## Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР в 2013 году

1. *Благова О.В.* Возможности биопсии миокарда в верификации диагноза миокардита у больных с «идиопатическими аритмиями» [Текст] / О.В. Благова, А.В. Недоступ, Е.А. Коган, В.А. Сулимов, С.А. Абугов, А.Г. Куприянова, В.А. Зайденов, А.Е. Донников, Е.В. Заклязьминская // Кардиология. – 2013. – Т. 53, № 11. – С. 21–30.

2. *Иткин Г.П.* Механизмы правожелудочковой недостаточности в условиях левожелудочкового вспомогательного кровообращения и методы бивентрикулярного обхода сердца [Текст] / Г.П. Иткин, В.Н. Попцов // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 126–137.
3. *Миронков А.Б.* Реваскуляризация миокарда в лечении пациентов с систолической дисфункцией левого желудочка: состояние проблемы // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 142–150.
4. *Остроумов Е.Н.* Кардиоресинхронизирующая терапия для жизнеспособного миокарда [Текст] / Е.Н. Остроумов, Е.Д. Котина, В.В. Слободяник, В.В. Тонкошкурова, В.А. Шмыров, М.Е. Мошков, Д.В. Шумаков // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 6, № 46. – С. 102–104.
5. *Попцов В.Н.* Периферическая вено-артериальная мембранная оксигенация как метод механической поддержки кровообращения перед трансплантацией сердца [Текст] / В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, Р.Ш. Саитгареев, Д.В. Шумаков, В.М. Захаревич, В.В. Слободяник, М.Г. Минина, В.В. Пчельников, О.А. Еремеева, П.Т. Лавренов // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 23–35.
6. *Ризун Л.И.* Некоронарогенная дилатационная кардиомиопатия после операции обратного ремоделирования сердца [Текст] / Л.И. Ризун, Т.С. Воронина, А.В. Домбровская, Ю.В. Фролова, О.В. Благова, Е.Ю. Ван, В.В. Ховрин, М.М. Морозова, А.Г. Куприянова, В.А. Зайденев, А.Е. Донников, В.В. Раскин, А.С. Дземешкевич, М.С. Маликова, С.Л. Дземешкевич // Кардиология. – 2013. – Т. 53, № 12. – С. 52–57.
7. *Честухин В.В.* Влияние полноты реваскуляризации сердца на функциональное состояние миокарда при ишемической кардиомиопатии [Текст] / В.В. Честухин, Б.Л. Миронков, Ф.А. Бляхман, Е.Н. Остроумов, С.Г. Колчанова, Т.Ф. Шкляр, Э.Т. Азоев, С.А. Саховский // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 55–63.
8. *Честухин В.В.* Оценка диастолической дисфункции левого желудочка сердечного трансплантата при развитии его васкулопатии [Текст] / В.В. Честухин, Б.Л. Миронков, И.Ю. Тюняева, В.М. Захаревич, А.Б. Миронков // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 1. – С. 6–11.
9. *Beletskaya L.V.* Lymphatic CD68+ endotelial cells in cardiac allograft humoral rejection [Текст] / L.V. Beletskaya, A.G. Kuprijanova, V.A. Zaidenov, S.V. Gautier // The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 202.

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ БОЛЕЗНИ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ СЕРДЦА И СЕРДЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА (по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Шевченко О.П., Миронков Б.Л., Шевченко А.О., Кормер А.Я., Олениченко Г.А., Халилулин Т.А., Стаханова Е.А.*

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

---

**Терминальная стадия застойной сердечной недостаточности, трансплантация сердца, ишемическая болезнь сердца, болезнь коронарных артерий пересаженного сердца, предтрансплантационные антитела к HLA, ангиогенные, протромбогенные, провоспалительные факторы.**

---

**Объект исследования:** реципиенты до трансплантации сердца и в различные сроки после трансплантации.

**Цель работы:** выявление антител к главному комплексу гистосовместимости человека (HLA), ангиогенных, протромбогенных, провоспалительных факторов, значимых в патогенезе болезни коронарных артерий сердечного трансплантата у реципиентов сердца; оценка их роли при развитии и коррекции патологии коронарных артерий; разработка на их основе подходов к прогнозированию, ранней диагностике и индивидуальной патогенетически обоснованной терапии; улучшение отдаленных результатов трансплантации сердца.

Установлено, что содержание CD34/CD45<sup>+</sup>-клеток в крови пациентов снижается после трансплантации сердца, а у реципиентов с ишемической кардиомиопатией количество CD34/CD45<sup>+</sup>-клеток после трансплантации связано с дооперационным уровнем sCD40L.

Проведенные исследования продемонстрировали возможности раннего прогнозирования развития БКАПС у реципиентов пересаженного сердца на основе анализа предсуществующих антител к HLA, выявления повышенных уровней ангиогенных, протромбогенных, провоспалительных факторов.

Продемонстрирована безопасность применения розувастатина у реципиентов пересаженного сердца в условиях проводимой посттрансплан-

тационной иммуносупрессивной терапии. Полученные результаты свидетельствуют о наличии выраженного нелипидного эффекта действия розувастатина у реципиентов пересаженного сердца, что позволяет рассчитывать на применение данного препарата группы статинов в профилактике развития васкулопатии трансплантата.

**Степень внедрения:** клиническая практика отделений ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России; постдипломное образование врачей.

**Эффективность:** оптимизация протокола лечения реципиентов сердца в различные сроки после трансплантации.

## ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация сердца – общепризнанный радикальный метод лечения пациентов с застойной сердечной недостаточностью, позволяющий добиться высокого качества жизни пациентов после операции. Продолжительность жизни реципиентов ограничена развитием посттрансплантационных осложнений, наиболее серьезным среди которых является болезнь коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС), которая развивается вследствие сочетанного влияния множества иммунных и неиммунных факторов.

Болезнь коронарных артерий трансплантированного сердца остается главной причиной смерти или ретрансплантации у реципиентов, проживших 5 и более лет после пересадки. Это заболевание характеризуется диффузной пролиферативной васкулопатией, ограниченной артериями трансплантированного сердца и связанной с развитием инфаркта миокарда, сердечной недостаточности, нарушений ритма и внезапной смертью.

На развитие васкулопатии трансплантата влияют факторы, действующие не только в отдаленном периоде, но и в ранние сроки после трансплантации, а также на дотрансплантационном этапе [6].

В патогенезе развития БКАПС в равной степени участвуют как иммунные, так и неиммунные механизмы. Среди них гистосовместимость донора и реципиента и число эпизодов острого отторжения, возраст реципиента и донора, артериальная гипертония, гиперлипидемия, гиперхолестеринемия, сахарный диабет, длительность ишемии трансплантата, воспаление и активация эндотелия стенки сосудов, метаболические факторы риска, активация тромбоцитов.

На протяжении последних 10–15 лет приоритетными направлениями в исследованиях по оптимизации результатов трансплантации сердца являются изучение механизмов развития БКАПС, разработка методов прогнозирования и медикаментозной профилактики заболевания [4, 6].

Идентификация и изучение антител к антигенам системы HLA (Human Leucocyte Antigens) имели большое значение для развития в 70-х годах XX века трансплантационной иммунобиологии, а использование простого

и практического анализа определения донор-специфических антител методом комплемент-зависимой цитотоксичности (кросс-матч-тест) – для осуществления клинической трансплантации органов. В 80–90-е годы благодаря совершенствованию иммуносупрессии, методов контроля реактивности Т-клеток, протокола обследования и ведения пациентов стало возможным существенно улучшить клинические результаты трансплантации органов, уменьшить число случаев острого отторжения и потери трансплантата [13]. Совершенствование лабораторных технологий позволило вплотную подойти к проблеме прогнозирования острого отторжения трансплантата. Значительным шагом вперед стало использование твердофазного иммунохимического анализа, основанного на связывании находящихся в плазме крови молекул антител против антигенов системы HLA (анти-HLA) с соответствующими антигенами системы HLA, иммобилизованными на поверхности микропланшета или полистироловых частиц (мультиплексный анализ), обладающего высокой чувствительностью и специфичностью. В настоящее время клиническая эффективность и применимость тестов на выявление анти-HLA у реципиентов сердца с целью оценки риска посттрансплантационных осложнений и высокочувствительной идентификации донорспецифических анти-HLA является предметом активного изучения. Имеются доказательные результаты, что наличие предрасполагающих, определяемых до трансплантации, донор-специфических анти-HLA является фактором, негативно влияющим на выживаемость реципиентов и трансплантата в течение первого года после трансплантации сердца. В ряде опубликованных исследований показано, что анти-HLA, обнаруживаемые после пересадки сердца, связаны с развитием отторжения, васкулопатии трансплантата или уменьшением выживаемости реципиентов, хотя связь *de novo* анти-HLA, появляющихся после трансплантации, с клиническими результатами еще недостаточно доказана [13, 14].

Применение статинов в комплексной терапии с иммуносупрессантами является важным направлением оптимизации отдаленных результатов, профилактики развития острого отторжения и болезни коронарных артерий пересаженного сердца [9]. Лечение статинами, начатое в ранние (в первые 3 месяца) сроки после трансплантации сердца, приводит к лучшей ближайшей и отдаленной выживаемости и достоверному снижению числа случаев васкулопатии трансплантата и других нежелательных эффектов [8, 10, 11]. Один из позитивных, но пока малоизученных эффектов статинов связан с улучшением микроциркуляции в трансплантированном сердце [7]. В реализации позитивного эффекта статинов имеют значение не только их гиполипидемическое действие, но также и противовоспалительный, и иммуномодулирующий эффекты [1–3, 12].

Согласно современным представлениям, активную роль в иммунопатологии сердечно-сосудистых осложнений играют биомаркеры воспаления и активации тромбоцитов, неоангиогенеза и эндогенной деструкции

тканей [5]. К наиболее важным из них относят маркеры нестабильного течения атеросклероза и острого коронарного синдрома – растворимую форму лиганда CD40 (sCD40L), ассоциированный с беременностью протеин плазмы А (РАРР-А) и плацентарный фактор роста (PIGF). Их уровень в плазме крови реципиентов сердца на ранних сроках после операций и в предоперационный период могут являться важными факторами риска отдаленных осложнений [6].

В ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова проводятся комплексные исследования, направленные на изучение патогенетических механизмов развития БКАПС, разработку методов раннего прогнозирования, основанных на оценке уровней ангиогенных, протромбогенных, провоспалительных факторов, изучение роли предсуществующих антител к HLA. Отдельное направление составляет изучение механизмов эффективности медикаментозной профилактики развития БКАПС. Оценивается безопасность и эффективность применения статинов на фоне иммуносупрессии в посттрансплантационном периоде, анализируются их липидные и плейотропные (нелипидные) эффекты. Указанные исследования составляют основу НИР «Молекулярные механизмы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата».

В ходе выполнения госзадания в 2012 году разработан диагностический комплекс, основанный на анализе концентрации биомаркеров, отражающих активность процессов неоангиогенеза, воспаления, тромбообразования и эндогенной деструкции тканей, позволяющий прогнозировать раннее развитие васкулопатии трансплантата, оценивать степень тяжести и распространенности поражения коронарного русла, риск прогрессирования васкулопатии трансплантата. По результатам этих исследований получен патент РФ № 2493567 «Способ прогнозирования развития необратимой дисфункции трансплантата у реципиентов сердца». Установлено прогностическое значение молекулярного биомаркера неоангиогенеза – плацентарного фактора роста (PIGF) в отношении риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (острого инфаркта миокарда, инсульта) у больных ИБС и реципиентов сердца. Доказано, что снижение коронарного резерва может служить начальным признаком дистального поражения сосудов сердечного трансплантата.

На этапе выполнения госзадания в 2013 году были проведены исследования, посвященные оценке риска развития и возможности раннего прогнозирования БКАПС у реципиентов пересаженного сердца на основе анализа предсуществующих антител к HLA, а также сравнительному анализу влияния различных (ангиогенных, протромбогенных, провоспалительных) факторов на риск развития васкулопатии трансплантата и связи указанных факторов с мобилизацией гемопоэтических стволовых клеток костного мозга у реципиентов сердца. Оценена возможность применения статинов у реципиентов пересаженного сердца в условиях проводимой

посттрансплантационной иммуносупрессивной терапии с учетом их нелипидного (противовоспалительного) действия.

**Цель:** определение прогностической роли антител к главному комплексу гистосовместимости человека (HLA) у реципиентов сердца, оценка взаимодействия различных факторов риска при развитии патологии коронарных артерий трансплантата; разработка патогенетически обоснованной терапии, направленной на улучшение отдаленных результатов трансплантации сердца.

### **Задачи исследования**

1. Оценить значение предсуществующих антител против HLA у реципиентов сердца и их предиктивную роль в отношении развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца.
2. Провести сравнительный анализ влияния PAPP-A, sCD40L и анти-HLA антител, а также уровня растворимой формы рецепторов к конечным продуктам гликозилирования (sRAGE) на развития васкулопатии трансплантата у реципиентов пересаженного сердца.
3. Оценить содержание и динамику гемопозитических стволовых (CD34/CD45 – позитивных) клеток в крови реципиентов сердца до и после трансплантации и их связь с концентрацией биомаркеров риска развития васкулопатии трансплантата.
4. Охарактеризовать нелипидные эффекты розувастатина у реципиентов сердца в условиях посттрансплантационной иммуносупрессивной терапии.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В 2013 году проведен анализ данных, полученных при наблюдении и лечении 140 пациентов до и после трансплантации сердца (ТС). Обследовано 140 пациентов с застойной сердечной недостаточностью, в том числе 25 женщин и 115 мужчин в возрасте от 16 до 73 ( $41 \pm 14$ ) лет, наблюдаемых до трансплантации сердца и в течение трех лет после нее. У 106 пациентов причиной сердечной недостаточности была дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 34 – ишемическая кардиомиопатия (ишемическая болезнь сердца, ИБС). Все пациенты получали медикаментозную терапию в соответствии с индивидуальными показаниями и тяжестью состояния. После трансплантации сердца все реципиенты получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую кортикостероиды, микофенолата мофетил и такролимус.

*Основные методы исследования:* сбор анамнеза, осмотр, общеклинические и биохимические лабораторные исследования, электро-, эхокардиографическое исследования, электрокардиографическое мониторирование,



рентгенологическое исследование грудной клетки, коронароангиография, вентрикулография, сцинтиграфия миокарда, инвазивные методы оценки центральной гемодинамики и легочного сопротивления, биопсия миокарда, патоморфологические, иммуногистохимические, бактериологические, иммунологические, биохимические, молекулярно-биологические и вирусологические исследования, иммуноферментный анализ, статистическая обработка данных: коэффициент корреляции Пирсона (для анализа выборок с распределением, приближенным к нормальному); непараметрические критерии – критерий  $\chi^2$  Пирсона, точный критерий Фишера, критерий Манна–Уитни.

Для анализа качественных признаков – точный критерий Фишера. Для интерпретации достоверности кривых выживаемости без нежелательных событий использован лонгранговый метод.

Верификация диагноза болезни коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) проводилась по результатам коронароангиографического и внутрисосудистого ультразвукового исследования. Острое клеточное отторжение диагностировали на основании результатов морфологического и гистохимического исследований эндомикардиального биоптата. Диагноз антителоопосредованного отторжения основывался на результатах оценки фиксации основных классов иммуноглобулинов (G, A, M) и C4d-компонента комплемента в стенках сосудов миокарда, методами прямой и непрямой иммунофлюоресценции на криостатных срезах, с учетом рекомендаций ISHLT 2005 года.

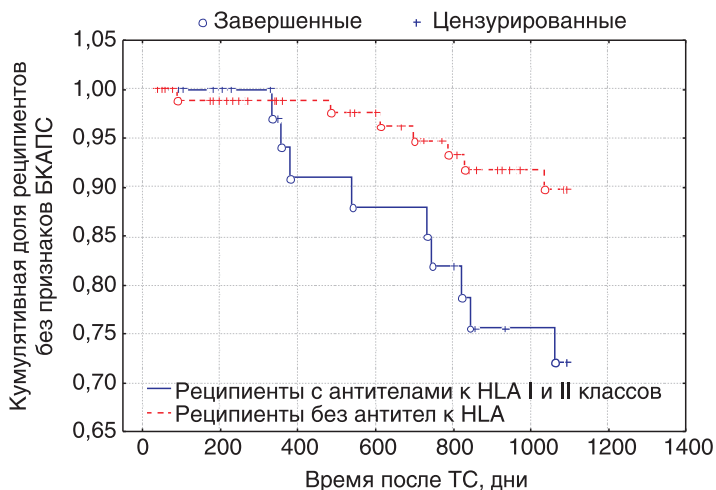
*Используемые средства, материально-техническое оснащение:* история болезни стационарного больного, медицинская аппаратура – электрокардиографы, аппараты для ультразвукового исследования, рентгеновский аппарат, компьютерный и ядерномагнитнорезонансный томографы, ангиографические установки, холтер-мониторы, хирургический инструментарий, дыхательная аппаратура, аппарат искусственного кровообращения, лабораторное оборудование, мониторы центральной гемодинамики, аппарат для внутриаортальной баллонной контрпульсации, центрифужные насосы крови, экстракорпоральная мембранная оксигенация, биохимический анализатор; персональные компьютеры, лицензионное статистическое программное обеспечение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлено, что наличие предрасполагающих анти-HLA, выявляемых методом твердофазного иммуноферментного анализа, может быть обнаружено у каждого третьего пациента, страдающего застойной сердечной недостаточностью и ожидающего трансплантацию сердца: у 45 из 140 больных (32,1%). Не было обнаружено достоверных различий в частоте выявления анти-HLA I и II класса у пациентов, страдающих ди-

латационной (36 пациентов, или 26% от общего числа больных ДКМП) и ишемической (14 больных, или 18% от общего числа пациентов с ИБС) кардиомиопатией.

Выявлена прямая связь между наличием предсуществующих анти-HLA I и II класса и клиническими результатами трансплантации, а именно с рисками развития сердечно-сосудистых осложнений, в первую очередь, васкулопатии трансплантата: высокие риски развития посттрансплантационных осложнений имеют место как в ранние, так и в более отдаленные сроки, до 3 лет (рис. 1).



**Рис. 1. Кумулятивная доля пациентов с выявленной болезнью коронарных артерий пересаженного сердца в группах пациентов с выявленными антителами к HLA I и II классов и без таковых ( $p = 0,02$ )**

Сравнительный анализ в группах реципиентов с наличием предсуществующих антител к HLA I и II класса и без таковых показал, что васкулопатия трансплантата, развившаяся в первые 3 года после ТС, была выявлена у 16 (11,43% от общего числа пациентов, включенных в исследование): у 9 (20%) – в группе реципиентов с выявленными антителами к HLA I и II класса и у 7 (6,8%) больных – без таковых. Риски развития БКАПС у реципиентов с выявленными антителами к HLA обоих классов превышали риски у пациентов без антител в 2,7 раза.

Риски развития сердечно-сосудистых осложнений, включающих и острое антителообусловленное отторжение, и БКАПС, также оказываются высокими именно у реципиентов с выявленными до трансплантации антителами. Риски развития таких осложнений выше в 2,1 раза, чем у пациентов, в крови которых не выявлялись антитела. Напротив, частота развития острого клеточного отторжения у реципиентов сердца в зави-

симости от наличия и отсутствия анти-HLA достоверно не различалась. Риски развития самого по себе острого клеточного отторжения послеоперационного периода либо в сочетании с БКАПС и антителоопосредованным отторжением оказались незначимыми для обеих групп реципиентов.

Результаты сравнительного анализа частоты развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов пересаженного сердца с выявленными до ТС антителами к HLA I и II класса и без таковых представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Сравнительный анализ частоты развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов пересаженного сердца с выявленными до ТС антителами к HLA I и II класса и без таковых**

Осложнения посттрансплантационного периода	Реципиенты с выявленными антителами к HLA I и II класса (n = 45)	Реципиенты без антител к HLA (n = 95)	Относительный риск (ОР), 95% доверительный интервал (ДИ), достоверность различий (p)
БКАПС, количество больных (%)	9 (20)	7 (6,8)	2,714 (1,08–6,824) p = 0,034
Острое антителообусловленное отторжение (AMR), количество больных (%)	12 (26,67)	11 (11,58)	2,3 (1,02–4,81) p = 0,027
БКАПС и AMR, количество больных (%)	7 (15,56)	4 (3,21)	2,1 (1,19–3,73) p = 0,01
БКАПС, AMR и острое клеточное отторжение, количество больных(%)	3 (6,66)	1 (1,05)	6,33 (0,677–52,21) p = 0,1

Результаты настоящего исследования показали, что выявление в предтрансплантационном периоде антител HLA является важным предрасполагающим фактором к развитию сердечно-сосудистых посттрансплантационных осложнений, в основе патогенеза которых лежит гуморальное звено, что согласуется с представлением об участии анти-HLA в гуморальном отторжении трансплантата и развитии болезни коронарных артерий пересаженного сердца.

Учитывая, что ранее была установлена связь уровней биомаркеров тромбообразования (sCD40L) и эндогенной деструкции тканей (PAPP-A) с риском развития васкулопатии трансплантированного сердца, в настоящем исследовании проведено сравнительное изучение прогностической роли указанных биомаркеров и анти-HLA антител I и II классов в отно-

шении развития БКАПС. До ТС повышенные предтрансплантационные уровни (выше медианы) PAPP-A и sCD40L выявлены в 44,29 и 55,71% случаев. У 32,1% пациентов до ТС определялись анти-HLA антитела. Относительный риск развития антителообусловленного отторжения и БКАПС у пациентов с наличием предтрансплантационных анти-HLA антител составил 2,1 (95% ДИ 1,19–3,73,  $p = 0,01$ ), с высокими уровнями PAPP-A и sCD40L 2,77 (95% ДИ 1,42–5,41,  $p = 0,002$ ) и 2,05 (95% ДИ 1,11–3,77,  $p = 0,02$ ) соответственно. Таким образом, все исследованные биомаркеры обладают прогностическим значением в отношении риска развития БКАПС. Наибольшая степень риска связана с высоким уровнем PAPP-A.

В отличие от перечисленных факторов не выявлено корреляции с риском васкулопатии трансплантата такого значимого фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний и диабета, как рецептор к конечным продуктам гликозилирования (Receptor for Advanced Glycation End Products).

Исследование уровней растворимой формы рецептора к конечным продуктам гликозилирования (sRAGE) у реципиентов до и после трансплантации сердца показало, что значения sRAGE достоверно выше у реципиентов, ожидающих ТС, чем у здоровых пациентов ( $1232,9 \pm 1196,2$  и  $791 \pm 413$ , соответственно). Показатели sRAGE не коррелировали с возрастом и полом реципиентов; проведенные исследования не выявили связи уровня sRAGE с развитием БКАПС. Однако представляется важным дальнейшее изучение взаимного влияния различных факторов риска.

Мобилизация в периферическую кровь гемопоэтических стволовых клеток предположительно является одним из важнейших путей регуляции тканевого гомеостаза при повреждении и регенерации различных тканей. Проведен анализ содержания CD34/CD45+-клеток в периферической крови реципиентов до и после трансплантации сердца и их связи с концентрацией биомаркеров, связанных с риском развития васкулопатии трансплантированного сердца. Содержание CD34/CD45+-клеток у пациентов с сердечной недостаточностью ( $224 \pm 166$ ) не отличалось от такового у здоровых лиц ( $233 \pm 120$ ). Содержание клеток у пациентов с дилатационной ( $253 \pm 188$ ) и ишемической ( $169 \pm 100$ ) кардиомиопатией также не различалось. Не обнаружено корреляций содержания CD34/CD45+-клеток с демографическими и лабораторными параметрами и уровнями биомаркеров PIGF, sCD40L, PAPP-A до операции. На 2–4-е сутки после трансплантации сердца содержание клеток снижалось ( $103 \pm 102$ ). Содержание гемопоэтических стволовых клеток в периферической крови реципиентов не коррелировало с демографическими (пол, возраст, рост, масса тела) и лабораторными (количество лейкоцитов, эритроцитов, содержание гемоглобина) параметрами, интро- и периоперационными факторами (длительность анестезии, операции, ишемии и гипотермии

трансплантата, объем кровопотери), но у пациентов с ишемической кардиомиопатией количество клеток после операции прямо связано с уровнем sCD40L ( $r_s = 0,79$ ), определяемым на этапе дотрансплантационного обследования.

Важная роль статинов при трансплантации сердца сомнений не вызывает. Очевидно, что в реализации позитивного эффекта статинов имеет значение не только их гиполипидемическое действие, но также и противовоспалительный, и иммуномодулирующий эффекты, проявление которых у реципиентов сердца является предметом продолжающихся исследований.

Применение в комплексной посттрансплантационной терапии препаратов группы статинов является оправданным и безопасным решением.

Проанализированы группы пациентов, получавших терапию аторвастатином и розувастатином. Достигнут гиполипидемический эффект, который был несколько более выражен у пациентов, получавших розувастатин. Известно, что последний обладает более высокой тропностью к ГМГ-КоА-редуктазе и характеризуется более сильным и стойким гиполипидемическим эффектом. Его применение у реципиентов сердца в послеоперационном периоде сопровождалось снижением и нормализацией уровней PAPP-A и sCD40L, являющихся значимыми предикторами васкулопатии трансплантата. Применение розувастатина сопровождается выраженным противовоспалительным эффектом, проявляющимся в достоверном снижении уровня С-реактивного белка (с  $13,4 \pm 9,5$  мг/л до начала приема розувастатина до  $3,7 \pm 1,8$  мг/л к концу 3-го месяца). При этом уровень цистатина С, отражающий уровень функции почек у пациентов, получающих комбинированную иммуносупрессивную терапию, не изменился и оставался на прежнем уровне ( $p > 0,05$ ), что также может служить дополнительным подтверждением безопасности применения розувастатина в сочетании с иммуносупрессантами. При исследовании динамики изменений уровней биомаркеров риска развития васкулопатии трансплантированного сердца установлено следующее: до начала лечения (на 3–4-й неделе после трансплантации сердца) средние значения PAPP-A, sCD40L и PIGF составили соответственно  $79,5 \pm 54,2$  мМЕ/л,  $7,4 \pm 6,1$  нг/мл и  $16,2 \pm 5,1$  пг/мл. Применение розувастатина позволило добиться достоверного снижения уровней PAPP-A и sCD40L до уровней  $40,2 \pm 22,7$  мМЕ/л и  $2,9 \pm 2,1$  нг/мл соответственно. Уровень PLGF остался неизменным.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии выраженного нелипидного действия розувастатина у реципиентов пересаженного сердца, который требует дальнейшего изучения на большей группе пациентов и позволяет рассчитывать на эффективное применение нового препарата группы статинов в профилактике развития васкулопатии трансплантата.

## ВЫВОДЫ

1. На основании результатов проведенных исследований продемонстрирована значимая прогностическая роль анти-HLA антител, выявляемых на этапе дотрансплантационного обследования, в отношении риска развития васкулопатии трансплантированного сердца.
2. Наряду с другими лабораторными биомаркерами риска развития БКАПС выявление предсуществующих анти-HLA является одним из важных компонентов предтрансплантационного обследования реципиентов сердца, позволяющим определить риски развития посттрансплантационных осложнений и предпринять необходимые меры профилактики на ранних сроках посттрансплантационного периода.
3. Среди комплекса исследованных лабораторных биомаркеров наибольшей прогностической значимостью в отношении развития БКАПС обладает PAPP-A; корреляции между уровнем растворимой формы рецепторов к конечным продуктам гликозилирования (sRAGE) и риском васкулопатии трансплантата выявлено не было.
4. Содержание гемопоэтических (CD34/CD45+) клеток в крови пациентов снижается после трансплантации сердца; у реципиентов с ишемической кардиомиопатией количество клеток после трансплантации связано с уровнем sCD40L, определяемым на этапе дотрансплантационного обследования.
5. Продемонстрирована безопасность приема розувастатина у реципиентов пересаженного сердца в условиях проводимой иммуносупрессивной терапии. Показано выраженное нелипидное действие розувастатина у реципиентов пересаженного сердца, позволяющее добиться снижением уровней биомаркеров риска развития БКАПС (PAPP-A, sCD40L).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанные подходы для прогнозирования ближайших и отдаленных результатов трансплантации сердца используются в клинической практике в ФНЦТИО, полученные результаты включены в программы последипломного обучения врачей, посвященные лечению больных с рефрактерной сердечной недостаточностью и ведению больных, нуждающихся в трансплантации сердца; наблюдению и лечению реципиентов сердца.

Продемонстрирована эффективность подходов медикаментозного лечения статинами, позволяющих добиться минимизации риска осложнений посттрансплантационного периода с целью достижения наилучших отдаленных результатов трансплантации сердца.

Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов НИР на федеральном и региональном уровне обеспечит повышение качества

обследования и лечения больных в терминальной стадии застойной сердечной недостаточности и реципиентов сердца, позволит увеличить количество трансплантаций сердца, снизить частоту развития осложнений после трансплантации сердца, увеличить продолжительность и качество жизни реципиентов сердца, увеличить число излеченных социально адаптированных больных.

### Список использованных источников

1. *Гиляревский С.Р., Орлов В.А., Кузьмина И.М., Батурина О.В.* Гиполипидемические эффекты применения интенсивных режимов приема статинов при лечении больных с острым коронарным синдромом: подходы к выбору препарата и его дозы // Кардиолог. и сердечно-сосуд. хирургия. – 2012. – 4. – С. 36–41.
2. *Зодионченко В.С., Шахрай Н.Б., Шехян Г.Г. и др.* Особенности фармакологических и клинических свойств розувастатина // Рос. мед. журнал. 2011. – Т. 19, № 10. – С. 1–8.
3. *Иванов А., Ростороцкая В., Эльгардт И., Сдобнякова Н.* Плейотропные эффекты розувастатина при реабилитации после инфаркта миокарда // Врач. – 2011. – 11. – С. 25–27.
4. *Честухин В.В., Миронков Б.Л., Белова А.Э., Остроумов Е.Н., Тюняева И.Ю., Захаревич Н.Ю.* Диагностика. Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца / Под ред. В.И. Шумакова. – 2008. – С. 107–115.
5. *Шевченко А.О., Слесарева Ю.С., Шевченко О.П.* Лабораторная диагностика повреждения атеросклеротической бляшки у больных ишемической болезнью сердца: RAPP-A // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – 5. – С. 3–10.
6. *Шумаков В.И., Шевченко О.П., Хубутия М.Ш. и др.* Васкулопатия трансплантированного сердца: синергизм провоспалительных, проатерогенных факторов и вирусной инфекции // Вестник РАМН. – 2006. – 11. – С. 8–14.
7. *Abu-Qaoud M.S., Stoletniy L.N., Chen D. et al.* Lack of relationship between microvascular and macrovascular disease in heart transplant recipients // Transplantation. – 2012. – Т. 94, № 9. – С. 965–970.
8. *Andreou I., Tousoulis D., Miliou A. et al.* Effects of rosuvastatin on myeloperoxidase levels in patients with chronic heart failure: a randomized placebo-controlled study. Atherosclerosis. – 2010. – 210. – С. 194–198.
9. *Gazi I.F., Liberopoulos E.N., Athyros V.G., Mikhailidis D.P.* Statins and solid organ transplantation // Curr Pharm Des. – 2006. – 12. – P. 4771–4783.
10. *Kobashigawa J.A., Moriguchi J.D., Laks H. et al.* Ten-year follow-up of a randomized trial of pravastatin in heart transplant patients // J. Heart Lung. Transplant. – 2005. – 24. – P. 1736–1740.
11. *Mehra M.R., Raval N.Y.* Metaanalysis of statins and survival in de novo cardiac transplantation // Transplant. Proc. – 2004. – 36. – P. 1539–1541.

12. *Stulc T., Malbohan I., Malik J. et al.* Increased levels of pregnancy-associated plasma protein-A in patients with hypercholesterolemia: the effect of atorvastatin treatment // *Am. Heart J.* – 2003. – 146: E21.
13. *Tambur A.R., Bray R.A., Takemoto S.K. et al.* Flow cytometric detection of HLA-specific antibodies as a predictor of heart allograft rejection // *Transplantation.* – 2000. – 70. – P. 1055–1059.
14. *Tait B.D., Süsal C., Gebel H.M., Nickerson P.W., Opelz G. et al.* Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation // *Transplantation.* – 2013. – 95. – P. 19–47.

## **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР**

1. *Шевченко О.П., Халилулин Т.А., Олефиренко Г.А., Курабекова Р.М., Апанасенко Н.В., Шевченко А.О., Миронков Б.Л., Ильинский И.М., Куприянова А.Г., Кормер А.Я.* Предиктивное значение предсуществующих аутоантител против HLA у реципиентов сердца // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – 2013. – № 4. – С. 16–22.
2. *Шевченко А.О., Халилулин Т.А., Шевченко О.П.* Механизмы нелипидного действия статинов у реципиентов сердца // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – 2013. – № 2. – С. 142–148.
3. *Шевченко О., Халилулин Т., Шевченко А., Захаревич В., Кунцевич Н., Муминов Э.* Нелипидные и противовоспалительные эффекты розувастатина у реципиентов сердца // *Врач.* – 2013. – № 5. – С. 76–79.
4. *Шевченко О.П., Курабекова Р.М., Луговская С.А., Наумова Е.В., Спирина Е.А., Попцов В.Н., Олефиренко Г.А., Долгов В.В.* Связь содержания CD34/CD45-позитивных клеток в крови реципиентов сердца и концентрации биомаркеров риска васкулопатии трансплантата // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – 2013. – Т. XV. – № 2. – С. 44–49.
5. *Shevchenko O., Kurabekova R., Poptsov V., Kuncевич N., Khalilulin T., Lugovskaya S., Naumova E., Spirina E., Dolgov V., Gautier S.* CD34/CD45 Positive cells concentration in peripheral blood of heart recipients before and after heart transplantation // 16th ESOT Congress Vienna. 2013.
6. *Shevchenko O.P., Orlova O.V., Mironkov B.L., Pjinsky I.M., Kuprijanova A.G., Kormer A.J., Gautier S.V.* Neopterin predicts poor short- and long-term outcomes in heart transplant recipients // *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* – 2013. – Vol. 32. – № 4S. – P. 52.

***Получен патент РФ № 2493567. Способ прогнозирования развития необратимой дисфункции трансплантата у реципиентов сердца.***



## **ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТРАНСПЛАНТАТА И РЕЦИПИЕНТА И РАЗРАБОТКА ПУТЕЙ ПРОЛОНГИРОВАНИЯ ФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА**

**(по материалам промежуточного отчета  
о научно-исследовательской работе)**

*Готье С.В., Цирульникова О.М., Томилина Н.А., Курабекова Р.М.,  
Кунцевич Н.В., Столяревич Е.С., Шевченко О.П.*

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

---

**Антитела к системе HLA, биомаркеры, трансплантация почки, трансплантация сердца, врожденные и наследственные заболевания гепатобилиарной системы, трансплантация печени, режимы иммуносупрессии.**

---

**Объект исследования:** дети раннего возраста с терминальной стадией заболеваний печени, дети раннего возраста – реципиенты печени, реципиенты почки, родственные доноры почки, печени, реципиенты сердца.

**Цель работы:** изучить биологические аспекты взаимодействия трансплантата и реципиента и разработать пути пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента.

Оценены распространенность предсуществующих анти-HLA антител у кандидатов на трансплантацию различных органов (сердце, почка и печень), их значение как потенциально значимого фактора в развитии отторжения в раннем послеоперационном периоде; при трансплантации печени детям раннего возраста установлена связь биомаркеров с выявлением анти-HLA (sCD40L), активностью воспаления и оксидативным статусом (гепсидин). Разработан способ прогнозирования течения раннего посттрансплантационного периода после родственной трансплантации печени детям раннего возраста на основании анализа инсулиноподобного фактора роста 1. Разработаны режимы иммуносупрессивной терапии, которые способствуют улучшению отдаленных результатов трансплантации у реципиентов почки.

**Степень внедрения:** клиническая практика и клинические протоколы отделений ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России; постдипломное образование врачей.

**Эффективность:** оптимизация иммуносупрессивного протокола у реципиентов почки, улучшение непосредственных и отдаленных результатов трансплантации органов.

## ВВЕДЕНИЕ

Изучение биологических аспектов взаимодействия трансплантата и реципиента является неотъемлемой задачей трансплантологии и связано, в первую очередь, с изучением механизмов иммунного реагирования, оценкой клеточных и молекулярных индикаторов этих процессов и разработкой путей их направленной регуляции.

Успехи в осуществлении клинической трансплантации жизненно важных органов делают актуальными задачи, связанные с прогнозированием течения послеоперационного периода и отдаленных результатов трансплантации, оценкой эффективности терапии. В последние годы много исследований в клинической трансплантологии посвящено изучению эффективности биохимических и иммунологических маркеров, позволяющих осуществлять мониторинг посттрансплантационного периода с помощью неинвазивных (или малоинвазивных) лабораторных технологий.

Идентификация и изучение антител к антигенам системы HLA (Human Leucocyte Antigens) имели большое значение для развития трансплантационной иммунобиологии, что позволило существенно улучшить клинические результаты трансплантации органов, уменьшить число случаев острого отторжения и потери трансплантата [1]. Совершенствование лабораторных технологий позволило вплотную подойти к проблеме прогнозирования острого отторжения трансплантата. В настоящее время клиническая эффективность и применимость тестов на выявление анти-HLA у реципиентов с целью оценки риска посттрансплантационных осложнений и высокочувствительной идентификации донорспецифических анти-HLA является предметом активного изучения [2, 3].

Имеются доказательные данные о том, что наличие предсуществующих, определяемых до трансплантации, донорспецифических анти-HLA является фактором, негативно влияющим на выживаемость реципиентов и трансплантата в течение первого года после трансплантации сердца, почки, печени [4–6].

Важнейшим направлением пролонгирования функции трансплантата является совершенствование режимов поддерживающей иммуносупрессивной терапии и разработка новых комбинаций иммуносупрессантов, обеспечивающих профилактику острого и хронического отторжения трансплантата с минимизацией побочных эффектов (в первую очередь,

нефротоксического повреждения, кардиоваскулярных, онкологических и инфекционных осложнений) [7, 8].

Успехи клинической трансплантологии во многом связаны с совершенствованием протоколов иммуносупрессии, способных обеспечить высокие показатели выживаемости трансплантатов как в ближайший, так и в отдаленный послеоперационный период. Тем не менее отторжение трансплантата (острое и хроническое) остается одной из основных причин «потерь» трансплантированного органа в отдаленные сроки после трансплантации [9–12]. При этом терапевтические мероприятия, направленные на купирование активного аллоиммунного ответа в поздние сроки (пульс-терапия метилпреднизолоном, антилимфоцитарные антитела, сеансы плазмафереза), как правило, не приводят к полному восстановлению функции трансплантата, что отрицательно сказывается и на его отдаленной судьбе [10, 12].

Перспективным направлением в этом отношении является изучение возможностей модуляции иммуносупрессивной терапии с целью предупреждения и лечения хронической дисфункции трансплантата.

На сегодняшний день имеются данные, свидетельствующие о том, что такролимус эффективнее циклоспорина предупреждает развитие острого отторжения, по крайней мере, в ранние сроки после трансплантации почки [13–17]. Эти данные явились предпосылкой для разработки тактики конверсии с циклоспорина на такролимус в случаях уже развившегося позднего острого отторжения, эффективность такой конверсии уже продемонстрирована в ряде исследований [18–24].

Другим важнейшим осложнением позднего послеоперационного периода является нефротоксичность ингибиторов кальциневрина, особенно у реципиентов почки [25]. Снижение дозы циклоспорина у пациентов с хронической СNI-нефротоксичностью позволяет замедлить темпы прогрессирования нефропатии. Это диктует необходимость минимизации дозировок этих препаратов, что, в свою очередь, при отсутствии адекватного восполнения иммуносупрессии чревато повышением риска отторжения. Поэтому интенсивные поиски, направленные на разработку новых комбинаций отдельных классов иммуносупрессантов, обеспечивающих профилактику острого и хронического отторжения трансплантата при минимизации побочных эффектов и инфекционных осложнений, продолжаются и в настоящее время. Одним из подходов к ведению пациентов с признаками СNI-нефротоксичности считается незначительное снижение дозы циклоспорина или такролимуса (на уровне нижней границы терапевтического окна) у пациентов, получающих трехкомпонентную иммуносупрессию с полной дозой микофенолатов, другим перспективным подходом к профилактике и лечению СNI-нефротоксичности считается использование ингибиторов пролиферативного сигнала в комбинации с низкими дозами ингибиторов кальциневрина [26–28].

Особое значение имеет объективизация критериев отбора потенциальных реципиентов солидных органов в зависимости от характера заболевания, а также от наличия, выраженности и сочетания различных факторов риска, в частности наличия предрасполагающих анти-HLA антител, активности процессов воспаления, неоангиогенеза, тромбообразования и др.

Общей целью всего исследования является изучение биологических аспектов взаимодействия трансплантата и реципиента при трансплантации солидных органов и разработка путей пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента.

При выполнении первого этапа исследования в 2012 г. была изучена и установлена связь между уровнем биомаркеров, отражающих активацию различных звеньев иммунной системы: макрофагов (неоптерина), Т-лимфоцитов (растворимого CD30, sCD30), костимулирующей молекулы (растворимой формы лиганда CD40, sCD40L) с течением посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени и доказано участие сигнальной системы CD40-CD40L в регуляции нарушений метаболизма, связанных с обменом гомоцистеина, при заболеваниях печени и в условиях функционирования печеночного трансплантата в организме реципиента.

Другим направлением исследования была патогистологическая оценка печени посмертного донора и изучение морфологии ишемического консервационно-реперфузионного повреждения трансплантированной печени на основании исследования биоптатов печени от потенциальных мультиорганных доноров и биоптатов трансплантированной печени.

На второй этап исследования в 2013 г. было запланировано изучение роли предрасполагающих анти-HLA антител у кандидатов на трансплантацию различных органов (сердце, почка и печень), оценка роли анти-HLA в развитии гуморального отторжения в раннем и позднем послеоперационном периоде, а также оценка возможного взаимного влияния различных факторов, определяемых по уровню иммунных биомаркеров на клинические результаты трансплантации; изучение уровней гепсидина как потенциально значимого биомаркера при заболеваниях печени и ее трансплантации у детей – реципиентов печени и его связи с уровнями других биомаркеров, значимых в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента и/или являющихся индикаторами развития осложнений в посттрансплантационном периоде; разработка способа прогнозирования клинических результатов трансплантации печени на основе анализа инсулиноподобного фактора роста 1.

Другим направлением работы была разработка оптимальных режимов поддерживающей иммуносупрессивной терапии как основного пути пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента. Кроме того, были продолжены клинико-морфологические исследования при трансплантации печени, анализ результатов которых планируется на последующем этапе, в 2014 году.

## **Задачи исследования**

1. Оценить распространенность предрасполагающих анти-HLA антител у кандидатов на трансплантацию различных органов (сердце, почка и печень), их роль в развитии отторжения в раннем и позднем послеоперационном периоде.
2. У детей с циррозом печени оценить связь других биомаркеров (sCD40L) с наличием антител против антигенов системы HLA и их динамикой после трансплантации печени с целью оценки взаимного влияния различных факторов на клинические результаты трансплантации.
3. Изучить содержание гепсидина у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы, ожидающих трансплантацию печени.
4. На основе анализа инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) разработать способ прогнозирования течения раннего посттрансплантационного периода при трансплантации печени детям раннего возраста.
5. Разработать оптимальные режимы посттрансплантационного ведения пациентов после трансплантации почки, направленные на минимизацию поздних осложнений, таких как онкологические заболевания, кардиоваскулярная патология, отторжение почечного трансплантата, а также на профилактику нефросклероза, индуцированного ингибиторами кальциневрина.
6. Оптимизировать режимы иммуносупрессии у реципиентов трансплантата почки при различных вариантах поздней дисфункции: острым либо хроническом отторжении, нефросклерозе, индуцированном ингибиторами кальциневрина.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследование включены реципиенты почки, печени, сердца до трансплантации и в различные сроки после нее. Обследование и лечение проводились в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России. Число и характеристика групп пациентов, включенных в различные фрагменты исследования по анализу роли анти-HLA антител, биомаркеров, а также в исследования по модуляции иммуносупрессивной терапии, представлены в соответствующих разделах.

В соответствующих разделах охарактеризованы также пациенты особой группы – дети – реципиенты печени. Трансплантация печени – эффективный и единственный радикальный метод лечения цирроза печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы у детей раннего возраста. В России программа родственной трансплантации фрагмента печени детям осуществляется с 1997 года.

В настоящее время в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России ежегодно выполняется более 60 таких операций.

*Основные методы исследования.* Сбор анамнеза, клиническая оценка состояния больного, анкетирование, общеклинические и биохимические, иммунологические (общий анализ крови, общий анализ мочи, определение клиренса креатинина, измерение концентрации общего белка, альбумина, активности ферментов аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы, содержания билирубина, общего холестерина и липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов, глюкозы, мочевины, микроэлементов (Ca, Mg, P), электролитов, исследование коагулограммы (активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), концентрация фибриногена), бактериологические исследования крови, мочи, отделяемого из зева, анализ на вирусные инфекции (CMV, EBV, HCV, HBV), молекулярно-биологические методы исследования, рентгенологические, магнитно-резонансные, сонографические, патоморфологические методы исследования. Оперативные вмешательства: резекция печени у донора, гепатэктомия, трансплантация фрагментов печени, нефрэктомия, трансплантация почки, пересадка сердца. Оценка особенностей течения послеоперационного периода. Оценка особенностей назначения иммуносупрессивной терапии. Оценка параметров качества жизни пациентов. Иммуноферментный анализ, иммунотурбидиметрия с усилением латексом, определение анти-HLA антител I и II класса с помощью мультиплексной технологии Luminex, статистическая обработка данных.

Патоморфологическому изучению подвергались кусочки ткани, полученные при пункционной биопсии трансплантата. Морфологическое исследование биоптатов включало световую микроскопию и иммунофлюоресцентное исследование, выполнявшееся на замороженных срезах с моноклональными FITC-мечеными антителами к IgG, IgM, IgA, C3-фрагменту комплемента (ДАКО) и C4d-фрагменту комплемента.

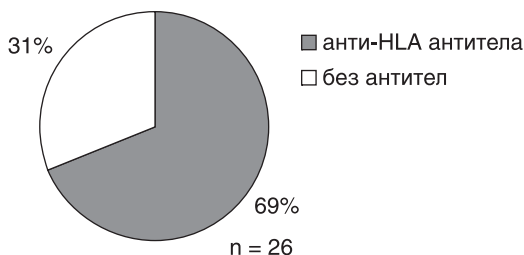
*Используемые средства, материально-техническое оснащение:* история болезни стационарного больного, аппараты для ультразвуковых исследований, фиброгастроуденоскопы, рентгеновские аппараты, хирургический инструментарий, аппараты искусственной вентиляции легких, аппараты для проведения гемодиализа и альбуминового диализа, набор эндоскопического оборудования, электрокардиограф, пульсоксиметр, микроскопы, в том числе с флюоресцентным блоком, лекарственные средства, проточный цитофлуориметр, иммуноферментный анализатор, хемилюминометр, биохимический и гематологический анализаторы, персональные компьютеры, лицензионное статистическое программное обеспечение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Выявление предрасполагающих анти-HLA антител у кандидатов на трансплантацию солидных органов и оценка их роли в развитии отторжения в раннем и позднем послеоперационном периоде

#### *Значение предрасполагающих анти-HLA антител при трансплантации сердца*

Для оценки распространенности и прогностического значения предрасполагающих анти-HLA антител обследованы 65 пациентов (48 мужчин и 17 женщин, средний возраст  $39,3 \pm 7$  лет) с застойной сердечной недостаточностью в исходе дилатационной кардиомиопатии (у 41 пациента) и ишемической кардиомиопатии (у 24 пациентов). Длительность наблюдения составила в среднем 108 мес. с момента операции. Исследование частоты предрасполагающих анти-HLA антител было выполнено также у 34 кандидатов на трансплантацию почки от живого родственного и трупного доноров, и у 10 потенциальных реципиентов печени от трупного донора. Частота осложнений анализировалась лишь в раннем послеоперационном периоде (первый месяц с момента операции). Предрасполагающие анти-HLA антитела были выявлены у 18 из 65 кандидатов на трансплантацию сердца. В последующем послеоперационные осложнения, в том числе острое клеточное и гуморальное отторжение сердечного трансплантата, развились у 26 реципиентов, 17 из которых имели предрасполагающие анти-HLA антитела (рис. 1).



**Рис. 1. Частота выявления предрасполагающих анти-HLA антител у пациентов с осложнениями после трансплантации сердца**

Концентрация предрасполагающих анти-HLA антител составила в среднем  $11,5 \pm 3,7$  mU/l. Этот показатель не коррелировал с клинико-демографическими показателями пациентов на момент операции. Высокий уровень предрасполагающих анти-HLA антител (более 11 mU/l) выявлялся у 30 пациентов (46,2%) и ассоциировался с высоким риском после-

операционных осложнений в целом (RR – 9,64; 95% ДИ: 1,39–66,64), а также осложнений, приведших к потере трансплантата (RR – 4,1; 95% ДИ: 1,18–25,9) в сравнении с пациентами, имевшими низкий титр предсуществующих анти-HLA антител. При этом в большинстве случаев осложнения развивались в поздний послеоперационный период (средний период времени до возникновения осложнений составил  $752 \pm 24$  дня у пациентов без предсуществующих анти-HLA антител и  $623 \pm 53$  дня в случаях их выявления).

### ***Значение предсуществующих анти-HLA антител при трансплантации почки***

Из 34 кандидатов на трансплантацию почки от живого родственного и трупного доноров с отрицательной перекрестной пробой у 17 пациентов анти-HLA антител обнаружено не было. В 8 случаях обнаружены антитела к HLA I класса и к HLA II класса. В 5 случаях выявлены антитела только к HLA I класса, в 4 – только к HLA II класса. Таким образом, у 50% пациентов при скрининговом обследовании были выявлены антитела к антигенам главного комплекса гистосовместимости. Корреляционной связи между наличием антител к HLA и частотой иммунологических осложнений в раннем послеоперационном периоде не обнаружено. Острое клеточное отторжение было диагностировано в двух случаях: у пациента без предсуществующих антител и у пациента с антителами к HLA класс I. Эпизодов острого гуморального отторжения зарегистрировано не было. Таким образом, наличие антител к HLA, определенных с помощью мультиплексной технологии Luminex, при условии отрицательной перекрестной пробы и уровне предсуществующих антител 0% (микролимфоцитотоксический тест) не увеличивало риска развития ранних (в течение первых 30 дней после трансплантации) иммунологических осложнений в данной серии наблюдений.

### ***Значение предсуществующих анти-HLA антител при трансплантации печени***

В исследование включено 99 детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы, из них 54 девочки и 45 мальчиков, в возрасте от 3 до 50 ( $12 \pm 10$ ) месяцев. Основными заболеваниями, которые привели к развитию терминальной стадии цирроза печени, являлись: атрезия желчевыводящих путей – у 53 (54%) пациентов, болезнь Байлера – у 12 (12%), синдром Алажилля – у 7 (7%), синдром Кароли – у 5 (5%), билиарная гипоплазия – у 7 (7%) пациентов и у 15 (15%) – другие заболевания, среди которых дефицит  $\alpha$ 1-антитрипсина, синдром Криглера–Найяра I типа, синдром Бадда–Киари, тирозинемия, гликогеноз I типа (болезнь Гирке).

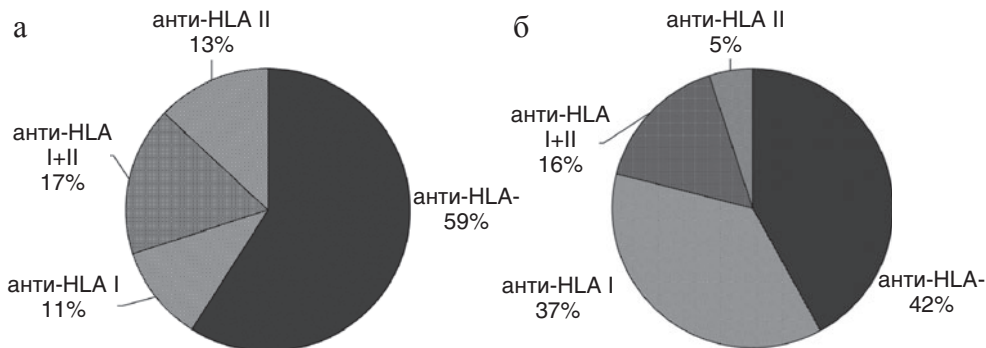


Обследовано также 38 взрослых родственных доноров фрагмента печени (16 мужчин и 22 женщины) в возрасте от 18 до 56 ( $37 \pm 19$ ) лет.

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

Группу сравнения составили 25 детей-реконвалесцентов без патологии печени, в возрасте от 7 до 24 ( $14 \pm 7$ ) месяцев, проходивших плановое диспансерное обследование после лечения по поводу перенесенного дисбактериоза кишечника, без других заболеваний.

Среди пациентов, включенных в исследование, у 58 (59%) – не было выявлено предсуществующих антител к HLA; HLA I класса были выявлены у 11 (11%) детей, HLA II – у 13 (13%) и антитела к HLA обоих классов – у 17 (17%) пациентов. Через месяц после трансплантации печени частота встречаемости анти-HLA не отличалась от таковой, определяемой на этапе дотрансплантационного обследования. Через год после трансплантации частота выявления анти-HLA в плазме крови увеличивается с 41 до 58% преимущественно за счет повышения частоты встречаемости анти-HLA I класса (рис. 2).

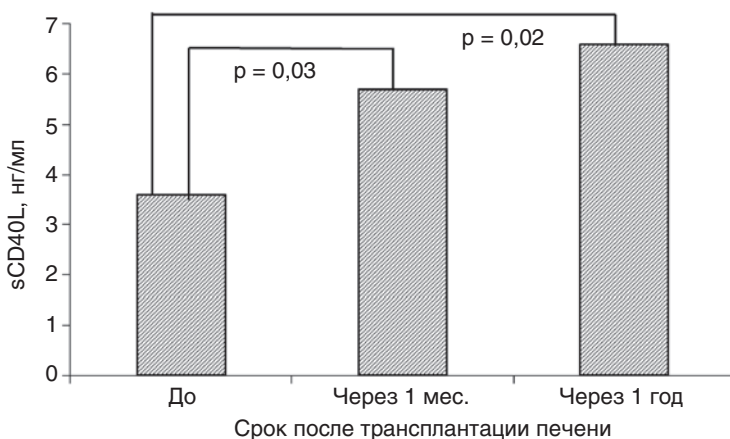


**Рис. 2. Выявление анти-HLA у реципиентов до трансплантации печени (а) и через год после (б)**

Поскольку на предыдущем этапе исследования были установлены прогностическая роль определения биомаркера sCD40L (костимулирующего фактора Т-клеток) при трансплантации печени детям, а также связь этого маркера с регуляцией метаболизма при заболеваниях печени, сопровождающихся гипергомоцистеинемией, в настоящем исследовании предпринята попытка оценить сочетанное влияние двух факторов – присутствия анти-HLA и повышенных уровней sCD40L в крови детей – реципиентов печени на клинические результаты трансплантации.

Сравнительный анализ содержания sCD40L и антител против HLA у детей с циррозом печени до и после трансплантации показал, что до трансплантации, через месяц и год после трансплантации средние уровни sCD40L не отличались в группах пациентов как с наличием анти-HLA, так и без таковых. Предсуществующие анти-HLA I выявлялись преимущественно у пациентов с исходно высоким уровнем sCD40L (у 9 из 11 пациентов, 82% случаев).

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



**Рис. 3. Увеличение концентрации sCD40L после трансплантации печени у пациентов с выявляемыми анти-HLA**

У пациентов, у которых не выявлялись анти-HLA, достоверных изменений в среднем уровне sCD40L через месяц и через год после трансплантации не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Полученные данные указывают на наличие связи уровня sCD40L с выявлением антител к HLA I класса и могут служить дополнительным, хотя и косвенным, основанием для предположения об участии sCD40L в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента и указанием на целесообразность учета взаимного влияния различных факторов на клинические результаты трансплантации.

***Анализ содержания гепсидина у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы, ожидающих трансплантацию печени***

Изучение биомаркеров, отражающих патологические процессы в печени, которые можно использовать для динамического наблюдения боль-

ных с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы и у реципиентов печени, является перспективным направлением в клинической трансплантологии. Одним из перспективных маркеров может быть гепсидин, продуцируемый в печени олигопептид, являющийся ключевым регулятором обмена железа и обладающий антибактериальными свойствами. Гепсидин назван в соответствии с местом его синтеза (печень, hep) и антибактериальными свойствами, обнаруженными в условиях *in vitro* (-cidin): HEPICIDIN.

В настоящем фрагменте исследования оценивали содержание гепсидина в плазме крови детей раннего возраста с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы, ожидающими трансплантацию печени, и связь этого биомаркера с клинически значимыми лабораторными показателями

В исследования включено 73 ребенка в возрасте от 5 до 38 ( $11 \pm 8$ ) месяцев (35 мальчиков и 38 девочек) с циррозом, вызванным врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы. Основными заболеваниями, которые привели к циррозу печени, были атрезия желчевыводящих путей – 43 пациента, синдром Алажилля – 10, болезнь Байлера – 6, билиарная гипоплазия – 3, гепатобластома – 1, гликогеноз – 1, криптогенный цирроз – 5, синдром Бадда–Киари – 1 и синдром Кароли – 3 пациента. Также было обследовано 12 здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу, составивших группу сравнения.

Установлено, что у детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы средняя концентрация гепсидина в плазме крови была достоверно выше таковой у здоровых детей того же возраста ( $12,8 \pm 12,3$  нг/мл – от 0,02 до 31 нг/мл,  $n = 73$ , и  $5,2 \pm 4,8$  – от 0,2 нг/мл до 15 нг/мл,  $n = 12$ , соответственно,  $p = 0,037$ ).

Результаты анализа корреляционных связей уровней гепсидина с количеством эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и уровнем гемоглобина, а также лабораторными маркерами, отражающими состояние гепатоцитов – аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза; состояние билиарной системы – билирубин (прямой, общий), щелочная фосфатаза, гамма-глутамилтрансфераза; выделительную функцию почек – креатинин, мочевины; синтетическую функцию печени – альбумин, общий белок; воспаление, оксидативный стресс – церулоплазмин, С-реактивный белок, неоптерин, представлены в таблице.

У 89,3% детей с врожденными и наследственными заболеваниями печени и желчевыводящих путей концентрация гемоглобина была ниже порогового значения и в среднем составила  $88,3 \pm 15,3$  г/л.

Обнаружена отрицательная слабо выраженная корреляция концентрации гепсидина в плазме крови с количеством эритроцитов и уровнями гемоглобина. Также выявлена слабо выраженная положительная корреляция концентрации гепсидина в плазме крови с количеством лейкоцитов.

Таблица

**Результаты анализа корреляционных связей гепсидина с рутинными лабораторными показателями, а также уровнями биомаркеров воспаления и оксидативного стресса у детей с врожденными заболеваниями печени и желчевыводящих путей**

Параметр	До трансплантации фрагмента печени	
	г	р
Эритроциты	-0,31	<b>0,02</b>
Гемоглобин	-0,38	<b>0,015</b>
Лейкоциты	0,33	<b>0,02</b>
Аланинаминотрансфераза	0,07	0,1
Аспаргатаминотрансфераза	-0,06	0,07
Билирубин общий	-0,27	0,06
Билирубин прямой	-0,26	0,06
Гамма-глутаминтрансфераза	0,13	0,065
Щелочная фосфатаза	0,02	0,09
Альбумин	-0,08	0,08
Общий белок	0,11	0,1
Креатинин	0,12	0,065
Мочевина	0,34	0,04
Церулоплазмин	0,36	<b>0,02</b>
С-реактивный белок	0,41	<b>0,02</b>
Неоптерин	0,37	<b>0,01</b>

Уровень гепсидина положительно коррелирует с уровнями маркеров воспаления и оксидативного стресса – С-реактивным белком, неоптерином, церулоплазмином.

Полученные результаты будут использованы для выполнения следующего этапа – изучения клинического значения гепсидина в послеоперационном периоде у реципиентов печени.

***Способ дооперационного прогнозирования течения раннего посттрансплантационного периода после родственной трансплантации печени детям раннего возраста***

Проблема прогнозирования течения раннего послеоперационного периода у детей раннего возраста после трансплантации печени является актуальной ввиду того, что данная категория пациентов относится к группе пациентов с высоким риском осложнений и неблагоприятного исхода. Особенностью детей раннего возраста с врожденными гепатобилиарными заболеваниями, которым выполняется родствен-

ная трансплантация печени, является сочетание факторов, разнонаправленно влияющих на прогноз эффективности лечения, например: обусловленная возрастом гиперреактивность иммунной системы и в то же время высокая способность к развитию иммунологической толерантности к трансплантату. Суммарный эффект этих факторов сложно оценить.

Безопасность минимизации иммуносупрессивной терапии в раннем послеоперационном периоде, как и необходимость более тщательной предоперационной подготовки пациентов (усиление антибактериальной, противовирусной терапии, коррекция метаболического статуса), может быть оценена с учетом риска осложненного течения раннего послеоперационного периода. Именно поэтому была предпринята попытка найти способ прогнозирования на дооперационном этапе осложненного течения раннего посттрансплантационного периода, обусловленного дисфункцией трансплантата, у детей раннего возраста после родственной трансплантации печени.

На основании результатов начатых в 2012 году исследований по анализу динамики биомаркеров, потенциально значимых в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента, а также регуляторных биомаркеров – факторов роста, связанных с регуляцией процессов повреждения и восстановления печени, был разработан способ прогнозирования течения посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени. Способ основан на анализе концентрации инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) в плазме крови реципиентов. Данные о концентрации ИФР-1 у реципиентов получены нами ранее и опубликованы [29].

Сущность предлагаемого способа дооперационного прогнозирования осложненного течения раннего послеоперационного периода, проявляющегося дисфункцией трансплантата, после трансплантации печени детям раннего возраста с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы состоит в следующем.

Перед трансплантацией печени в плазме крови кандидатов на трансплантацию определяют концентрацию в нг/мл инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) и соматотропного гормона (СТГ). Далее вычисляют индекс прогнозирования  $K$  по формуле:  $K = \log(\text{ИФР-1}/\text{СТГ})$ . При величине  $K$ , меньшей минус 1,7, прогнозируют осложненное течение раннего посттрансплантационного периода, проявляющееся дисфункцией трансплантата. Определенное соотношение концентраций ИФР-1 и СТГ в плазме крови до операции, выраженное через десятичный логарифм, является информативным прогностическим показателем течения раннего посттрансплантационного периода после родственной трансплантации печени детям раннего возраста с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы.

Врожденные заболевания печени сопровождаются дефицитом ИФР-1, усиливающимся по мере прогрессирования заболевания и снижения белковосинтетической функции печени. В ответ на дефицит ИФР-1 по механизму отрицательной обратной связи происходит повышение секреции СТГ, одной из функций которого является стимуляция синтеза ИФР-1. Таким образом, по мере прогрессирования заболеваний гепатобилиарной системы усиливается дефицит ИФР-1 и увеличивается концентрация СТГ. Оба фактора влияют как на метаболический статус пациента, так и на состояние его иммунной системы. Оказалось, что выраженный дисбаланс между ИФР-1 и СТГ перед трансплантацией печени оказывает неблагоприятное влияние на течение раннего послеоперационного периода и повышает риск развития дисфункции трансплантата, что может быть связано как с метаболическими, так и с иммунными механизмами и является достоверным прогностическим показателем. Таким образом, найденный нами индекс прогнозирования, оценивающий дисбаланс в системе СТГ – ИФР-1, позволяет прогнозировать более широкий спектр осложнений в раннем посттрансплантационном периоде. Предложенный способ апробирован в клинической практике на 39 пациентах, при этом прогноз течения раннего посттрансплантационного периода, сделанный по заявленному способу, был подтвержден в 33 случаях, что составило 84,6%.

По результатам разработки подана заявка на патент РФ: 2013151879 от 22.11.2013 г. Использование в клинической практике разработанного способа дает возможность рационального подхода к отбору и более тщательной подготовке пациентов к операции, а также к созданию соответствующих протоколов терапии для выделенных групп риска, что предполагает возможность повышения эффективности лечения.

### ***Разработка оптимальных режимов иммуносупрессивной терапии у пациентов после трансплантации почки***

Для оценки эффективности модуляции иммуносупрессивной терапии проведен анализ наблюдений 202 пациентов почечного трансплантата (мужчин – 125; женщин – 77) с поздним (в среднем через  $31 \pm 37$  мес. после операции) отторжением трансплантированной почки. Диагноз острого и хронического отторжения во всех случаях был верифицирован морфологически в соответствии с критериями Banff-классификации. На момент биопсии средний возраст пациентов составил  $36,7 \pm 11,6$  года. ИСТ во всех случаях включала в качестве базовых препаратов циклоспорин и кортикостероиды, в том числе у 198 человек ИСТ включала 3 компонента (169 пациентов получали препараты микофеноловой кислоты, 19 – азатиоприн), и 3 человека принимали 2-компонентную иммуносупрессию. После верификации диагноза 116 человек продолжили поддерживающую

терапию циклоспорином, а 86 пациентов были переведены на такролимус. Лечение острого отторжения включало в себя пульсовое введение метилпреднизолона и антилимфоцитарные антитела по показаниям. При гуморальном отторжении применялись сеансы плазмафереза, которые в отдельных случаях сочетались с введением внутривенного человеческого иммуноглобулина. Средняя длительность наблюдения составляла  $15,6 \pm 11,9$  мес. (медиана – 12,8 мес.) в группе такролимуса и  $20,4 \pm 17,0$  мес. (медиана – 12,9 мес.) в группе циклоспорина (p-NS). Группы были сопоставимы по основным демографическим и клиническим показателям. Средний уровень креатинина плазмы на момент биопсии значимо не различался и составлял  $0,31 \pm 0,17$  ммоль/л (медиана 0,27 ммоль/л) в группе циклоспорина и  $0,29 \pm 0,19$  ммоль/л (медиана 0,25 ммоль/л) в группе такролимуса ( $p = 0,45$ ).

Для сравнительного анализа двух возможных подходов к профилактике и лечению хронической нефротоксичности ингибиторов кальциневрина проанализированы результаты конверсии с ингибиторов кальциневрина (CNI) на ингибиторы пролиферативного сигнала (ИПС).

Исследование выполнялось у 174 пациентов (104 мужчины и 68 женщин) с CNI-нефротоксичностью, диагностированной в поздние сроки после АТП (от 6 до 125 мес.; в среднем через  $32,3 \pm 26,8$  мес.). Во всех случаях диагноз был верифицирован морфологически по данным биопсии трансплантата. Показанием к выполнению биопсии у всех пациентов служила дисфункция трансплантата (повышение уровня креатинина крови в среднем до  $0,24 \pm 0,1$  ммоль/л). В большинстве случаев (146 чел. – 84%) нефротоксичность проявлялась CNI-ассоциированной артериолопатией (нодулярный артериологалиноз в сочетании с интерстициальным фиброзом и атрофией канальцев), у 28 пациентов (16%) имела место тромботическая микроангиопатия. У 139 пациентов после верификации причины дисфункции проводилась коррекция дозы циклоспорина, в том числе в 92 случаях снижение дозы циклоспорина предпринималось в составе ИСТ, включающей препараты микофеноловой кислоты и кортикостероиды; 47 пациентов были переведены на иммуносупрессивную терапию на базе ИПС (эверолимус). Контрольную группу составили 35 пациентов, имевших при ретроспективной оценке нефробиоптатов морфологическую картину, свойственную CNI-нефротоксичности, и у которых коррекции иммуносупрессии не проводилось.

У пациентов, получавших низкую дозу циклоспорина в сочетании с микофенолатами, целевая концентрация СуА составляла 80–100 нг/мл, что потребовало снижения его дозы в среднем на 25%. В группе конверсии на ИПС доза циклоспорина снижалась до достижения целевой концентрации 30–50 нг/мл, в среднем на 56%. Целевая концентрация ИПС составляла 3–8 нг/мл.

Эффективность терапии оценивали по динамике креатинина крови и СКФ, а также по выживаемости почечных трансплантатов в сравнении с группой исторического контроля.

***Определение показаний для изменения поддерживающей ИСТ после трансплантации почки (отмена либо минимизация кортикостероидов, конверсия с ингибиторов кальциневрина на ингибиторы пролиферативного сигнала либо с циклоспорина на такролимус) при развитии осложнений позднего послеоперационного периода либо с целью их профилактики***

Анализ результатов конверсии с циклоспорина на такролимус у реципиентов с бескризовым течением продемонстрировал улучшение функции почечного трансплантата. Уровень креатинина плазмы крови в этой группе до и после конверсии с ЦсА на Так составил соответственно  $0,139 \pm 0,5$  ммоль/л и  $0,128 \pm 0,047$  ммоль/л,  $p < 0,031$ . У реципиентов со стабильной удовлетворительной функцией трансплантата перевод с ЦсА на Так позволил безопасно снизить среднесуточную дозу преднизолона: с  $6,98 \pm 3,1$  мг на фоне терапии ЦсА до  $3,8 \pm 2,02$  мг – после перевода на Так ( $p < 0,0001$ ). Это оказалось возможным, в частности, и у отдельных реципиентов, перенесших до конверсии кризы отторжения. Более того, в группе пациентов с бескризовым послеоперационным течением конверсия на Так в 10,2% случаев позволила полностью отменить кортикостероиды.

При анализе влияния смены ингибитора кальциневрина на факторы риска кардиоваскулярных осложнений было установлено, что перевод с ЦсА на Так у реципиентов почечного трансплантата приводит к снижению степени гиперхолестеринемии и частоты АГ. Уровень холестерина крови у пациентов до и после конверсии с ЦсА на Так составил  $5,7$  ( $5,05$ ;  $6,5$ ) ммоль/л и  $5,0$  ( $4,3$ ;  $5,9$ ) ммоль/л соответственно,  $p < 0,0001$ . В свою очередь, частота АГ уменьшилась более чем в 2 раза ( $38,5$  и  $17,7\%$  соответственно,  $p < 0,01$ ). С другой стороны, выяснилось, что конверсия с ЦсА на Так не повлияла на посттрансплантационную гипергликемию ( $4,9$  ( $4,3$ ;  $5,3$ ) ммоль/л и  $5$  ( $4,65$ ;  $5,6$ ) ммоль/л,  $p = 0,35$ ), протеинурию ( $0,28 \pm 0,72$  г/сут и  $0,32 \pm 0,71$  г/сут,  $p = 0,9$ ) и гиперурикемию ( $0,43$  ( $0,38$ ;  $0,51$ ) ммоль/л и  $0,38$  ( $0,35$ ;  $0,45$ ) ммоль/л,  $p = 0,15$ ).

При оценке эффективности и безопасности конверсии с ЦсА на ингибиторы пролиферативного сигнала у 55 реципиентов почечного трансплантата с онкологическими осложнениями, выявленными и устраненными в отдаленные сроки после трансплантации почки, оказалось, что к концу наблюдения 35 из 55 (63,6%) пациентов продолжают лечение эверолимусом без признаков рецидива опухолевого процесса в течение 16–69 мес.

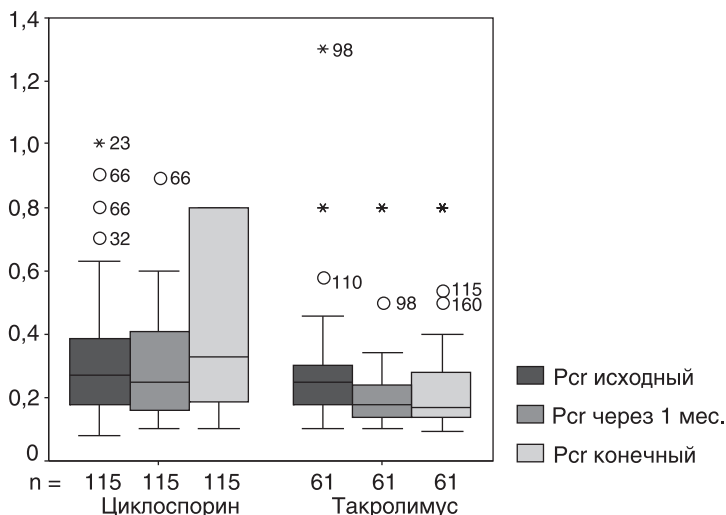


У 11 из 55 (20%) пациентов лечение эверолимусом было прервано из-за развития побочных эффектов терапии в среднем через 8,1 мес. Наиболее частой причиной отмены препарата была протеинурия, которая выявилась у 9 из 11 (82%) пациентов. У одного реципиента наблюдались интенсивный кожный зуд и отеки. Еще у одного больного лечение было прекращено в связи с развитием выраженных артралгий, которые регрессировали только после отмены препарата. У 5 из 55 (9%) больных после конверсии с ЦсА на эверолимус наблюдалась прогрессирующая дисфункция трансплантата с рецидивом ХПН и возобновлением диализной терапии. Трое (5,4%) больных умерли от прогрессирующего опухолевого процесса (саркома Капоши, базилиома, рак простаты), один – от ОНМК.

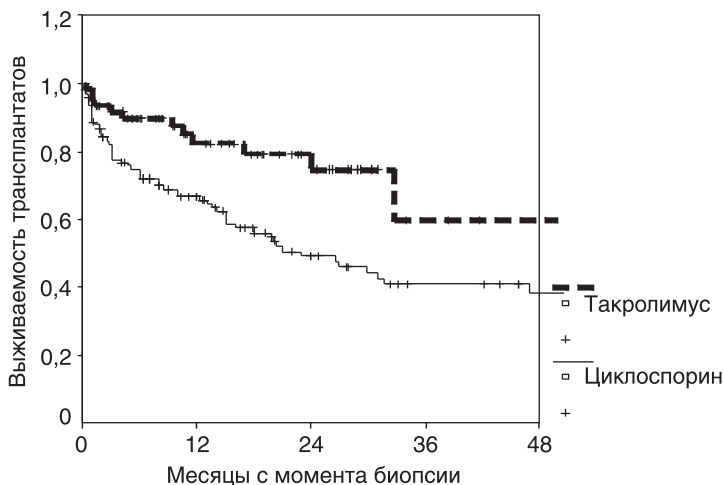
***Оптимизация режимов иммуносупрессии при остром либо хроническом отторжении почечного трансплантата, нефросклерозе, индуцированном ингибиторами кальциневрина***

При анализе результатов лечения позднего отторжения почечного трансплантата оказалось, что несмотря на отсутствие различий в исходном состоянии функции почечного трансплантата в сравниваемых группах (уровень креатинина плазмы крови на момент биопсии составлял в среднем  $0,31 \pm 0,17$  ммоль/л (медиана 0,27 ммоль/л) в группе ЦсА и  $0,29 \pm 0,19$  ммоль/л (медиана 0,25 ммоль/л) в группе ТАК ( $p = 0,45$ ) и одинаковые подходы к лечению позднего острого или острой стадии активного хронического отторжения (в обеих группах лечение включало пульс-терапию метилпреднизолоном (3 пульса через день по 250–500 мг), в случаях активного гуморального отторжения применялся также плазмаферез), дальнейшее течение нефропатии существенно различалось. Так, в течение первого месяца после диагностики и лечения отторжения в обеих группах отмечалась тенденция к снижению креатинина крови, однако она была более выраженной в Так-группе по сравнению с ЦсА-группой и составила соответственно 0,25 (0,18; 0,3) – 0,18 (0,14; 0,25) и 0,27 (0,18; 0,4) – 0,25 (0,16; 0,41) ммоль/л. Эти различия стали еще более отчетливыми при дальнейшем наблюдении. В Так-группе наблюдалась стабилизация креатинина крови на уровне 0,17 (0,14; 0,3) ммоль/л, тогда как у пациентов, продолжавших прием ЦсА, отмечалось прогрессирование дисфункции с повышением креатинина крови до 0,33 (0,19; 0,8) ммоль/л (рис. 4).

4-летняя выживаемость трансплантатов с момента морфологической верификации криза отторжения составила 57% в группе конверсии на такролимус и снижалась до 41% у реципиентов, продолжавших лечение ЦсА ( $p < 0,01$ ) (рис. 5).



**Рис. 4. Динамика функции трансплантата, оцененная по изменению уровня креатинина крови, у пациентов с поздним отторжением трансплантата в зависимости от режима ИСТ**

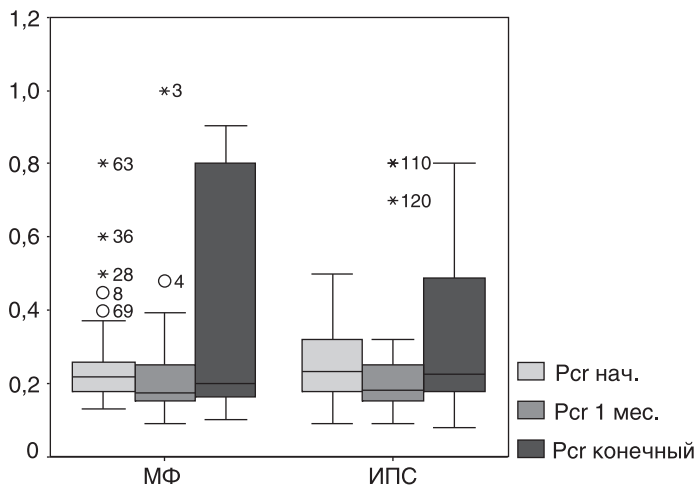


**Рис. 5. Выживаемость трансплантатов при остром позднем и активном хроническом отторжении в зависимости от режима иммуносупрессии**

**Оптимизация режимов иммуносупрессии при нефросклерозе, индуцированном ингибиторами кальциневрина**

По данным сравнительного анализа двух возможных подходов к профилактике и лечению хронической нефротоксичности ингибиторов кальциневрина, оказалось, что в сравниваемых группах динамика пока-

зателей, характеризующих функцию трансплантата, практически не различалась. Так, в течение первого месяца после уменьшения дозы ЦиА отмечалось значительное снижение уровня креатинина плазмы крови в обеих группах реципиентов. В последующем наблюдалось медленное прогрессирование дисфункции до уровней, не превышающих, однако, ее первоначальные значения – 0,21 (0,18; 0,25); 0,18 (0,15; 0,25) и 0,2 (0,16; 0,8) для группы МФ и 0,22 (0,18; 0,29), 0,18 (0,15; 0,21), 0,2 (0,16; 0,4) для группы ИПС соответственно (рис. 6).

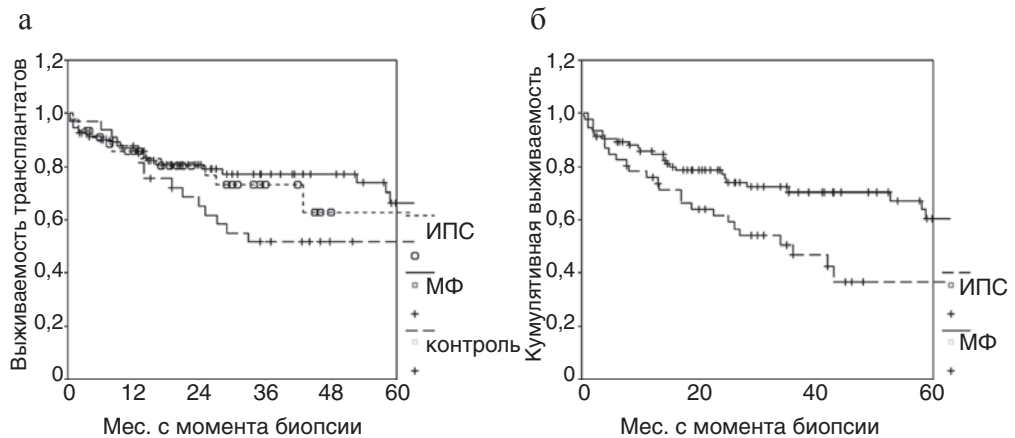


**Рис. 6. Динамика креатинина крови при CNI-нефротоксичности в зависимости от режима иммуносупрессии**

Выживаемость трансплантатов после снижения дозы ЦиА на фоне продолжавшейся терапии МФ либо конверсии на ИПС к 5 годам наблюдения значимо не различалась, составляя 66,5 и 68% на МФ и ИПС соответственно, что было несколько выше, чем в контрольной группе (51,%, NS). Однако при более детальном анализе оказалось, что такой кумулятивный показатель, как отсутствие эффективности терапии, включающий все причины ее прекращения, в т. ч. смерть пациента с функционирующим трансплантатом, потерю трансплантата и отмену терапии из-за развития отторжения либо серьезных побочных эффектов, оказался значимо ниже при конверсии на ИПС (рис. 7).

Важнейшим побочным эффектом такой терапии, потребовавшим в большинстве случаев отмены препарата, была протеинурия, развившаяся у 19,1% пациентов и в большинстве случаев достигавшая нефротического уровня, несмотря на раннее назначение иАПФ и БРА. Факторами, снижающими эффективность обоих подходов, оказались признаки тромботической микроангиопатии, сопутствующего острого отторжения, а также

распространенность тубуло-интерстициального склероза, превышающая 50% почечной паренхимы.



**Рис. 7. Выживаемость трансплантатов (а) и кумулятивный показатель отсутствия эффективности терапии (б) в зависимости от режима ИСТ**

## ВЫВОДЫ

1. Выявление в предтрансплантационном периоде антител к HLA I и II класса связано с риском развития тяжелых осложнений, прежде всего гуморального отторжения трансплантата, после трансплантации сердца. Выявление предсуществующих антител к HLA не увеличивает риск развития ранних (в течение первых 30 дней после трансплантации) при условии отрицательной перекрестной пробы иммунологических осложнений после трансплантации почки, однако значение этого фактора для развития поздних послеоперационных осложнений требует уточнения.
2. У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы предсуществующие анти-HLA I выявляются преимущественно у пациентов с исходно высоким уровнем sCD40L (82% случаев). Концентрации sCD40L после трансплантации печени достоверно увеличивается именно у пациентов с предсуществующими анти-HLA I класса. Наличие связи уровня sCD40L с выявлением антител к HLA I класса может служить дополнительным основанием для предположения об участии sCD40L в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента.
3. У детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы средняя концентрация гепсидина в плазме крови достоверно выше таковой у здоровых детей того же возраста. Уровень

гепсидина связан с тяжестью анемии, концентрациями биомаркеров воспаления/оксидативного стресса.

4. Анализ концентрации инсулиноподобного фактора роста 1 при трансплантации печени детям раннего возраста может быть использован для прогнозирования течения посттрансплантационного периода.
5. Конверсия с ЦсА на Так в условиях стабильной функции трансплантата создает условия для безопасной минимизации/отмены кортикостероидов, а у пациентов с отторжением (острым либо активным хроническим) способствует замедлению темпов прогрессирования нефропатии и улучшает выживаемость трансплантатов почки.
5. При сформировавшейся CNI-нефротоксичности снижение дозы циклоsporина в комбинации с препаратами МФ в полной дозе и конверсия на ИПС с минимизацией дозы ингибиторов кальциневрина равно эффективны в отношении торможения дисфункции трансплантированной почки, обусловленной CNI-ассоциированной нефропатией. Выбор тактики лечения у таких пациентов должен определяться индивидуальной переносимостью препаратов и возможностью их применения в эффективной дозе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов НИР на федеральном и региональном уровне позволит повысить эффективность обследования и предоперационной подготовки больных, нуждающихся в трансплантации печени и почки за счет повышения эффективности; позволит снизить сроки госпитализации, летальности после трансплантации почки и печени, повысить качество жизни реципиентов солидных органов; разработанные режимы иммуносупрессивной терапии будут способствовать улучшению отдаленных результатов трансплантации.

Результаты исследования могут быть использованы для постдипломного образования врачей по лечению больных с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы, нуждающихся в трансплантации печени или почки, ведению реципиентов с трансплантированными органами, в том числе при развитии у них ренальных либо экстраренальных осложнений.

## Список использованных источников

1. *Patel R., Terasaki P.I.* Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation // *N. Engl. J. Med.* – 1969. – 280 (14). – P. 735–739.
2. *Tambur A.R., Bray R.A., Takemoto S.K., Mancini M., Costanzo M.R., Kobashigawa J.A., D'Amico C.L., Kanter K.R., Berg A., Vega J.D., Smith A.L., Roggero A.L., Ortelgel J.W., Wilmoth-Hosey L., Cecka J.M., Gebel H.M.* Flow cytometric detection of HLA-specific antibodies as a predictor of heart allograft rejection // *Transplantation.* – 2000. – Vol. 70. – P. 1055–1059.

3. *Tait B.D., Süsal C., Gebel H.M., Nickerson P.W., Zachary A.A., Claas F.H.J., Reed E.F., Bray R.A., Campbell P., Chapman J.R., Coates P.T., Colvin R.B., Cozzi E., Doxiadis I.I.N., Fuggle S.V., Gill J., Glotz D., Lachmann N., Mohanakumar T., Suciu-Foca N., Sumitran-Holgersson S., Tanabe K., Taylor C.J., Webster A., Zeevi A., Opelz G.* Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation // *Transplantation.* – 2013. – Vol. 95. – P. 19–47.
4. *Robinson D., Banner N., Goh A., Hamour M., Ozawa M., Rose M., Smith J., Terasaki P.* De novo donor HLA specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival // *Am. J. Transplant.* – 2011. – 11 (2). – P. 312–319.
5. *Kaneku H.* Annual literature review of donor-specific HLA antibodies after organ transplantation // *Clin. Transpl.* – 2011. – P. 311–318.
6. *Angaswamy N., Tiriveedhi V., Sarma N.J., Subramanian V., Klein C., Wellen J., Shenoy S., Chapman W.C., Mohanakumar T.* Interplay between immune responses to HLA and non-HLA self-antigens in allograft rejection. // *Hum Immunol.* – 2013. – Vol. 74 (11). – P. 1478–1485.
7. *Nankivell B.J., Chapman J.R.* Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions // *Transplantation.* – 2006. – № 5. – P. 643–654.
8. *Мойсюк Я.Г., Столяревич Е.С., Томилина Н.А.* Болезни почечного трансплантата // *Нефрология: национальное руководство / Под ред. Н.А. Мухина.* – М: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – С. 629–682.
9. *Jevnikar A.M., Mannon R.B.* Late kidney allograft loss: what we know about it, and what we can do about it // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2008. – № 3 (Suppl 2). – S56–S67.
10. *Joseph J.T., Kingsmore D.B., Junor B.J. et al.* The impact of late acute rejection after cadaveric kidney transplantation // *Clin. Transplant.* – 2001. – № 4. – P. 221–227.
11. *McLaren A.J., Fuggle S.V., Welsh K.I. et al.* Chronic Allograft Failure in Human Renal Transplantation. A Multivariate Risk Factor Analysis // *Ann. Surg.* – 2000. – № 1. – P. 98–103.
12. *Sijpkens Y.W., Doxiadis I.I., Mallat M.J. et al.* Early versus late acute rejection episodes in renal transplantation // *Transplantation.* – 2003. – № 2. – P. 204–208.
13. *Krämer B.K., Del Castillo D., Margreiter R. et al.* Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporin A microemulsion in renal transplantation: three-year observational results // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2008. – № 7. – P. 2386–2392.
14. *Margreiter R.* For the European Tacrolimus vs Ciclosporin Microemulsion Renal Transplantation Study Group. Efficacy and safety of tacrolimus compared with ciclosporin microemulsion in renal transplantation: a randomised multicentre study // *The Lancet.* – 2002. – № 359. – P. 741–746.
15. *Pascual J., Marce R., Burgos F.J. et al.* One-Center Comparison Between Primary Immunosuppression Based on Neoral Cyclosporine and Tacrolimus for Renal Transplantation // *Transplant. Proc.* – 2002. – № 34. – P. 94–95.

16. *Trompeter R., Filler G., Webb N. et al.* Randomized trial of tacrolimus versus cyclosporin microemulsion in renal transplantation // *Pediatr. Nephrol.* – 2002. – № 17. – P. 141–149.
17. *Woodroffe R., Yao G.L., Meads C. et al.* Clinical and cost-effectiveness of newer immunosuppressive regimens in renal transplantation: a systematic review and modelling study // *Health Technol. Assess.* – 2005. – № 21. – P. 1–179.
18. *Blume C., Hollenbeck M., Ivens K. et al.* Conversion From Cyclosporine to Tacrolimus Prevents Transplant Function Loss due to Acute Steroid-Resistant or Chronic Rejection in Renal Allograft Recipients // *Transplant. Proc.* – 2001. – № 33. – P. 3161–3163.
19. *Briggs D., Dudley C., Pattison J. et al.* Effects of immediate switch from cyclosporine microemulsion to tacrolimus at first acute rejection in renal allograft recipients // *Transplantation.* – 2003. – № 12. – P. 2058–2063.
20. *Jordan M.L., Shapiro R., Vivas C. et al.* Outcome of Tacrolimus Conversion Therapy for Renal Allograft Rejection: 5-Year Follow-Up // *Transplant Proc.* – № 31 (Suppl 7A). – P. 81S–83S.
21. *Kliem V., Petersen R., Ehlerding G. et al.* Tacrolimus for Steroid- and OKT3-Resistant Rejection in Kidney Recipients // *Transplant Proc.* – 1998. – № 30. – P. 1251–1253.
22. *Kliem V., Radermacher J., Hiss M. et al.* Conversion to Tacrolimus for Acute Corticosteroid- and Antibody-Resistant Rejection Following Kidney Transplantation // *Transplant Proc.* – 1999. – № 31(Suppl 7A). – P. 37S–40S.
23. *Lee W., Lian J-D., Wu M-J. et al.* Long-term beneficial effect of tacrolimus conversion on renal transplant recipients // *Renal failure.* – 2005. – № 27. – P. 501–506.
24. *Manu M.A., Tanabe K., Ishikawa N. et al.* Tacrolimus Rescue for Resistant Rejection, Chronic Rejection, and Immunoglobulin A Nephropathy of Renal Allografts Under Primary Cyclosporine A Immunosuppression // *Transplant. Proc.* – 1999. – № 31. – P. 2853–2855.
25. *Nankivell B.J., Borrows R.J., Fung C.L. et al.* The natural history of chronic allograft nephropathy // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – № 349. – P. 2326–2334.
26. *Kahan B.D., Gibbons S., Tejpal N. et al.* Synergistic interactions of cyclosporine and rapamycin to inhibit immune performances of normal human peripheral blood lymphocytes in vitro // *Transplantation.* – № 1. – P. 232–239.
27. *Morales J., Fierro A., Benavente D. et al.* Conversion from a calcineurin inhibitor-based immunosuppressive regimen to everolimus in renal transplant recipients: effect on renal function and proteinuria // *Transplant Proc.* – 2007. – № 39 (3). – P. 591–593.
28. *Tedesco-Silva H., Vitko S, Pascual J. et al.* 12-month safety and efficacy of everolimus with reduced exposure cyclosporine in de novo renal transplant recipients // *Transpl. Int.* – 2007. – № 1. – P. 27–36.
29. *Шевченко О.П.* Инсулиноподобный фактор роста-1 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы / О.П. Шевченко, О.М. Цирульникова, А.В. Бугров, Ю.Э. Лурье, И.Е. Цирульникова, Д.С. Мнацаканян, О.Е. Гичкун, С.В. Готье // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – 2012. – № 1. – С. 50–54.

## Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР

1. *Белокуров Д.А.* Коррекция пороков сердца в условиях искусственного кровообращения у пациентов после трансплантации почки [Текст] / Д.А. Белокуров, М.Л. Семеновский, Я.Г. Мойсюк // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 64–69.
2. *Бузулина В.П.* Биохимические маркеры резорбции кости и гормональная регуляция костного метаболизма после пересадки печени [Текст] / В.П. Бузулина, И.А. Пронченко, И.П. Ермакова, Н.П. Шмерко, М.Н. Корнилов, Е.Б. Ярошенко, Т.К. Колиашвили // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 1. – С. 31–38.
3. *Габриэлян Н.И.* Использование биопрепаратов в абдоминальной хирургии и трансплантации печени (Экспериментальные и клинические наблюдения) [Текст] / Н.И. Габриэлян, Л.И. Арефьева, Е.М. Горская, М.Н. Корнилов, Я.Г. Мойсюк, О.М. Цирульникова // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 55–63.
4. *Габриэлян Н.И.* Особенности микрофлоры кишечника у детей – реципиентов донорской печени [Текст] / Н.И. Габриэлян, Е.М. Горская, О.М. Цирульникова, Т.С. Спирина, Л.Ю. Ромашкина // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 40–46.
5. *Готье С.В.* Донорство органов для трансплантации: правовые, организационные и этические аспекты / Готье С.В., Шевченко О.П. // Биоэтика. – 2013. – № 1 (11). – С. 29–35.
6. *Готье С.В.* Коррекция хронической печеночной недостаточности при трансплантации клеток печени в виде суспензии и клеточно-инженерных конструкций (экспериментальное исследование) [Текст] / С.В. Готье, М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко, М.Е. Крашенинников, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, А.В. Люндуп, Е.А. Волкова, К.И. Петраков, П.В. Аврамов, Н.В. Перова, В.И. Севастьянов // Вестник РАМН. – 2013. – № 4. – С. 44–51.
7. *Готье С.В.* Обоснование рационального числа центров трансплантации и донорских баз в Российской Федерации, их географии и номенклатуры [Текст] / С.В. Готье, С.М. Хомяков // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 5–15.
8. *Готье С.В.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2012 году. V сообщение регистра Российского трансплантологического общества [Текст] / С.В. Готье, Я.Г. Мойсюк, С.М. Хомяков // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 8–22.
9. *Готье С.В.* Первый опыт клинического применения отечественного аппарата вспомогательного кровообращения на базе имплантируемого осевого насоса для двухэтапной трансплантации сердца / С.В. Готье, Г.П. Иткин, С.Ю. Шемакин, Р.Ш. Сайтгареев, В.Н. Попцов, В.М. Захаревич, Г.А. Акопов, А.Я. Кормер, Т.А. Халилулин, О.П. Шевченко, А.М. Невзоров, И.А. Филатов, С.В. Селищев // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV. – № 3. – С. 92–101.



10. *Готье С.В.* Реконструкция клапанов донорского сердца с последующей его трансплантацией [Текст] / С.В. Готье, Р.Ш. Сайтгареев, В.Н. Попцов, Д.В. Шумаков, Г. А. Акопов, В.М. Захаревич, А.Я. Кормер, Е.А. Спирина // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 36–42.
11. *Готье С.В.* Трансплантация печени у детей с болезнями накопления гликогена: оценка риска и необходимости ее проведения [Текст] / С.В. Готье, О.М. Цирульникова, Д.С. Мнакацян, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 1. – С. 67–74.
12. *Готье С.В.* Физическая реабилитация в трансплантологии (обзор литературы) / С.В. Готье, Е.Е. Ачкасов, Е.М. Шилов, О.М. Цирульникова, Т.Ю. Жирнова, С.В. Аршамян // Нефрология и диализ. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 200–208.
13. *Готье С.В.* Оценка потребности населения в трансплантации органов, донорского ресурса и планирование эффективной сети медицинских организаций (центров трансплантации) / С.В. Готье, С.М. Хомяков // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 11–24.
14. *Ермакова И.П.* Динамика биохимических маркеров ремоделирования костной ткани после пересадки печени / И.П. Ермакова, В.П. Бузулина, И.А. Пронченко, Н.П. Шмерко // Клин. лабораторная диагностика. – 2013. – № 5. – С. 25–30.
15. *Ивашкин В.Т.* Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С [Текст] / В.Т. Ивашкин, Н.Д. Ющук, М.В. Маевская, Я.Г. Мойсюк // Клинич. перспективы гастроэнтерол., гепатол. – 2013. – № 2. – С. 3–32.
16. *Ирышкин О.Е.* Гипоплазия внутрипеченочных желчных протоков [Текст] / О.Е. Ирышкин, И.М. Ильинский, О.М. Цирульникова // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 135–141.
17. *Ирышкин О.Е.* Клинико-морфологическая диагностика гипоплазии внутрипеченочных желчных протоков [Текст] / О.Е. Ирышкин, И.М. Ильинский, О.М. Цирульникова, С.В. Готье // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 56–64.
18. *Ирышкин О.Е.* Патоморфология билиарной атрезии у детей – реципиентов донорской печени [Текст] / О.Е. Ирышкин, И.М. Ильинский, О.М. Цирульникова, С.В. Готье // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 47–55.
19. *Корнилов М.Н.* Применение открытого нитинолового самораскрывающегося стента при лечении анатомических билиарных структур после трансплантации печени: первый опыт [Текст] / М.Н. Корнилов, В.В. Гвоздик, А.Н. Лотов, Я.Г. Мойсюк // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 49–54.
20. *Крстич М.* Острый бактериальный тубулоинтерстициальный нефрит почечного аллотрансплантата с клинической картиной бактериемического шока [Текст] / М. Крстич, А.В. Ватазин, В.И. Прокопенко, А.Б. Зулькарнаев, Е.С. Столяревич, Р.О. Кантария // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 99–103.

21. *Онищенко Н.А.* Индивидуальная устойчивость стереотипов иммунного реагирования и современные возможности их диагностики при трансплантации органов (иммуно-физиологический анализ проблемы) [Текст] / Н.А. Онищенко, С.Д. Артамонов, М.Е. Крашенинников, Л.В. Башкина, А.О. Никольская, М.Ф. Расулов, И.М. Иванов // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 109–120.
22. *Онищенко Н.А.* Информационная значимость мониторинга популяций CD4+Т-лимфоцитов в диагностике и прогнозировании реакции организма на трансплантат [Текст] / Н.А. Онищенко, Л.В. Башкина, А.О. Никольская, С.Д. Артамонов // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 112–125.
23. *Попцов В.Н.* Чрескожное трансфemorальное дренирование левого предсердия как метод объемной разгрузки левого желудочка при проведении периферической вено-артериальной мембранной оксигенации у потенциальных реципиентов сердца [Текст] / В.Н. Попцов, Е.А. Спирина, В.В. Слободяник, В.М. Захаревич, О.А. Еремеева, С.А. Масютин // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 70–83.
24. *Пронченко И.А.* Костный обмен и минеральная плотность костной ткани поясничных позвонков у женщин с первичным билиарным циррозом до и после ортотопической трансплантации печени [Текст] / И.А. Пронченко, И.П. Ермакова, Я.Г. Мойсюк, В.П. Бузулина, Н.П. Шмерко // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. XV. – № 1. – С. 21–30.
25. *Скалецкий Н.Н.* Разработка методических подходов к получению островковых клеток на основании результатов морфологического анализа поджелудочной железы кроликов различного возраста [Текст] / Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Н.В. Баранова, Г.Н. Бубенцова // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 98–103.
26. *Сушков А.И.* Белатацепт при трансплантации почки [Текст] / А.И. Сушков, Я.Г. Мойсюк // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 1. – С. 96–105.
27. *Сушков А.И.* Тяжелая иммунная гемолитическая анемия после трансплантации печени [Текст] / А.И. Сушков, Ю.О. Малиновская, И.А. Милосердов, Я.Г. Мойсюк // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 95–98.
28. *Шагидулин М.Ю.* Использование МСК различной онтогенетической зрелости для коррекции хронического фиброзирующего повреждения печени / М.Ю. Шагидулин, А.А. Горкун, Н.А. Онищенко, М.Е. Крашенинников, И.М. Ильинский, Н.П. Можейко, Л.В. Башкина, И.Н. Сабурин, В.И. Севастьянов, С.В. Готье // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 73–82.
29. *Шагидулин М.Ю.* Трансплантация клеточно-инженерных конструкций в печень обеспечивает длительную поддержку процессов восстановительной регенерации в поврежденной печени [Текст] / М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко, М.Е. Крашенинников, И.М. Ильинский, А.В. Ляндуп, Н.П. Можей-

- ко, В.И. Севастьянов, С.В. Готье // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 64–74 .
30. *Шагидулин М.Ю.* Трансплантация стволовых клеток костного мозга как новый способ лечения печеночной недостаточности. Современное состояние проблемы / М.Ю. Шагидулин, Н.А. Онищенко // Фарматека. – 2013. – № 18. – С. 130–135.
31. *Немец Е.А.* Образование биопленок штаммами госпитальной флоры, выделенными из биологических субстратов пациентов, на поверхности материалов и изделий медицинского назначения [Текст] / Е.А. Немец, Р.А. Юнес, А.К. Худошин, Н.И. Габриэлян, В.И. Севастьянов // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 92–97.
32. *AlMazroa M.A.* GBD 2010 country results: a global public good [Текст] / M.A. AlMazroa, Z.A. Memish, B.T. Bikbov // The Lancet. – 2013. – Vol. 381. – P. 997–1000.
33. *Bikbov B.T.* Mortality landscape in the Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study [Текст] / B.T. Bikbov, N. Perico, G. Remuzzi // European Journal of Internal Medicine. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2013.09.002>.
34. *Franquesa M.* Mesenchymal Stem Cells in Solid Organ Transplantation (MiSOT) Fourth Meeting: Lessons Learned from First Clinical Trials / M. Franquesa, M.J. Hoogduijn, E. Eggenhofer, J. Pinxteren, B. Christ, M. Shagidulin, N. Obermajer, A. Pulin, G. Remuzzi, M.H. Dahlke, the MiSOT Study Group // Transplantation. – 2013. – Vol. 96 (3). – P. 234–238.
35. *Poptsov V.N.* Early extubation in operating room after heart transplantation [Текст] / V.N. Poptsov, E.A. Spirina, O.U. Vinogradova // The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 261–262.
36. *Shagidulin M.* Liver tissue regeneration after transplantation of human umbilical cord derived MSC's spheroids at modeling of chronic liver failure / M. Shagidulin, S. Gautier, A. Gorkun, N. Onishchenko, A. Pulin, V. Repin, I. Saburina, I. Zurina // The international journal of artificial organs. – 2013. – Vol. 36 (8). – P. 584.
37. *Shagidulin M.* Selection of tactics of damaged liver therapy by Using cell transplantation (experimental study) / M. Shagidulin, N. Onishchenko, M. Krashennnikov, L. Bashkina, A. Nicol'skya, I. Iljinsky, N. Mogeiko, P. Avramov, E. Volkova, A. Lundup, N. Perova, V. Sevastjanov, S. Gautier // Transplant. International. – 2013. – Vol. 26. – P. 185.
38. *Volkova E.A.* Assessing the impact of the implantable axial pump on the immune system in an experiment on calves / E.A. Volkova, P.V. Avramov, G.P. Itkin, M.U. Shagidulin, E.G. Shochina, D.O. Sinyavkin // Int. J. Artif. Organs. – Vol. 36 (8). – 2013. – P. 573.

## **РАЗРАБОТКА И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ В УСЛОВИЯХ ТКАНЕВОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ И ОТ АВ0-НЕСОВМЕСТИМЫХ ДОНОРОВ (по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Сушков А.И., Шевченко О.П.,  
Цирульникова И.Е., Цирульникова О.М., Зайденов В.А.*

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

---

**Трансплантация солидных органов; несовместимость донора и реципиента  
по группе крови; иммунологическая аккомодация; тканевая несовмести-  
мость.**

---

**Объект исследования:** Кандидаты на трансплантацию с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. Реципиенты трансплантата почки, полученного от несовместимых по группе крови родственных доноров.

**Цель работы:** разработка, теоретическое обоснование и внедрение в практику концепции преодоления барьера групповой несовместимости при трансплантации почки, печени или сердца.

В 2013 году в рамках государственного задания начаты исследования в области преодоления барьера несовместимости по группе крови при трансплантации почки от живого родственного донора. В отчете представлен промежуточный анализ полученных результатов. На следующих этапах работы в 2014 и 2015 гг. в исследование будут включены, обобщены и проанализированы данные пациентов, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию фрагмента печени от живого родственного донора и трансплантацию сердца.

На первом этапе исследования **выявлены** особенности предоперационного статуса гуморального звена иммунитета у кандидатов на трансплантацию почки.

Определены варианты индивидуальной реакции иммунной системы кандидатов на трансплантацию почки от АВ0-несовместимого родственного донора в ответ на проводимую десенсибилизацию.

Установлено, что в отличие от стандартных (совместимых по группе крови) трансплантаций фиксация C4d-компонента комплемента в перитубулярных капиллярах при иммуногистохимическом анализе биоптатов АВ0-несовместимых трансплантатов почки не является признаком протекающего антитело-опосредованного отторжения, по крайней мере в первые 90 дней после пересадки.

Описан феномен иммунологической аккомодации трансплантата почки в условиях групповой несовместимости

**Степень внедрения:** клиническая практика отделений ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

**Эффективность:** оптимизация протокола десенсибилизации реципиентов органов от несовместимых по группе крови доноров, оценка риска послеоперационных иммунологических осложнений на этапе дотрансплантационного обследования и десенсибилизации показали возможность, эффективность и безопасность трансплантации почки при отсутствии АВ0-совместимого донора.

## ВВЕДЕНИЕ

Обеспеченность нуждающихся пациентов трансплантологической помощью как в России, так и во всем мире крайне недостаточна. Несовместимость донора и реципиента по группе крови ранее являлась абсолютным противопоказанием к трансплантации. Разработка и внедрение в клиническую практику инновационных методик по преодолению барьера групповой (АВ0) несовместимости позволяет расширить пул потенциальных родственных доноров почки на 20–25%.

В случаях, когда необходима экстренная трансплантация или ретрансплантация сердца или печени от умершего донора, выполнение АВ0-несовместимой трансплантации может стать единственным реальным шансом спасти жизнь пациента.

Присутствие в крови реципиента изоагглютининов (антител против АВ0-антигенов) является преградой к АВ0-несовместимой трансплантации почки. Однако введение в клиническую практику режимов предоперационного кондиционирования реципиента, основанных на применении современных иммуносупрессивных препаратов и эфферентных методик, во многих случаях позволяет элиминировать изоагглютинины перед трансплантацией, предотвратить их *de novo* образование в посттрансплантационном периоде и, таким образом, преодолеть барьер групповой несовместимости.

По данным Stegall et al., выполнение АВ0-несовместимых трансплантаций позволит, по крайней мере, на 10% увеличить количество родственных пересадок почки [1], а Beimler и Zeier оценивают этот прирост в 30–35% [2]. В 1960–1970-е годы предпринимались попытки выполнить

трансплантацию почки от несовместимого по АВ0 донора, однако результаты оказались печальными – практически все трансплантаты были утрачены в результате сверхострого отторжения. В 1987 году Alexandre et al. сообщили об успешной серии из 26 АВ0-несовместимых трансплантаций почки от живого родственного донора [3]. Одновременно с операцией пересадки почки реципиентам выполняли спленэктомию. Иммуносупрессивная терапия включала в себя глюкокортикостероиды, циклоспорин, азатиоприн, поликлональные антиtimoцитарные антитела и трансфузию донор-специфичных тромбоцитов.

Ввиду драматического дефицита трупных органов в Японии большинство АВ0-несовместимых трансплантаций почки от живого донора было выполнено именно в этой стране. Опубликованные в 2004 году данные показывают хорошие отдаленные результаты этих операций [4]. Похожие результаты были получены в Соединенных Штатах Америки и в Европе. Несмотря на многообещающие достижения, до сих пор остается много нерешенных вопросов, протоколы подготовки к АВ0-несовместимой трансплантации и послеоперационного ведения пациентов весьма разнообразны.

## **Подходы к проведению АВ0-несовместимой трансплантации почки**

При трансплантации солидных органов ведущую роль играет совместимость донора и реципиента по системе групп крови АВ0, а количество совпадений антигенов главного комплекса гистосовместимости рассматривается во вторую очередь.

Значимость системы АВ0 объясняется двумя фактами: 1) антигены системы АВ0 экспрессируются на поверхности почти всех клеток организма (в том числе и на поверхности эндотелиальных клеток почки [5]) и 2) согласно закону, сформулированному Landsteiner, в сыворотке человека присутствуют антитела к антигенам АВ0-системы, которые отсутствуют в его собственном организме. Если изоагглютинины присутствуют в сыворотке реципиента в высоком титре, то они инициируют сверхострое отторжение трансплантата, экспрессирующего на поверхности своих клеток отсутствующие у реципиента А/В антигены. Интенсивность экспрессии АВ0-антигенов на поверхности разных тканей отличается. Так, плотность АВ0-антигенов на поверхности клеток почки примерно в два раза выше, чем на поверхности клеток ткани печени [6]. У большинства людей антитела к аллогенным антигенам системы АВ0 вырабатываются без предварительной сенсibilизации. Появление изоагглютининов происходит в результате контакта иммунной системы человека с идентичными эпитопами, которые по случайному совпадению экспрессированы на многих микроорганизмах.

Существует три метода элиминации антигрупповых антител: хирургический, применение методов экстракорпоральной гемокоррекции и фармакологический.

### **Хирургический метод: спленэктомия**

Хирургический подход предполагает выполнение спленэктомии (до или во время операции пересадки почки). Известно, что селезенка – вторичный (периферический) лимфоидный орган, содержит до 25% общего числа лимфоцитов человека и является местом встречи антигенов, циркулирующих в крови, с иммунокомпетентными клетками, распознавания и презентации антигена, развития специфического иммунного ответа, взаимодействия иммунокомпетентных клеток, их пролиферации и антиген-зависимой дифференцировки.

По мнению Starzl et al. [7], выполнение спленэктомии помимо количественного уменьшения лимфоцитов потенцирует действие иммуносупрессивных препаратов. Угнетение процесса созревания, дифференцировки и пролиферации В-лимфоцитов в антитело-образующие клетки позволяет добиваться снижения уровня анти-AB0 антител. Однако удаление селезенки не всегда гарантирует полную остановку синтеза изоагглютининов и не всегда предотвращает развитие гуморального отторжения в посттрансплантационном периоде [8].

Современные режимы иммуносупрессии позволяют полностью отказаться от спленэктомии как одного из способов угнетения иммунитета при трансплантации солидных органов.

### **Методы экстракорпоральной гемокоррекции: плазмаферез, специфическая иммуносорбция анти-AB0 антител**

Методы экстракорпоральной гемокоррекции (плазмаферез, каскадный плазмаферез и специфическая иммуносорбция анти-А и/или анти-В антител) позволяют эффективно снижать уровень антигрупповых антител [9–11]. Наиболее физиологичной процедурой является иммуносорбция на колонках со специфическим углеводным антигеном [12, 13]. Однако если у пациента обнаружен значимый титр анти-HLA антител, которые способны повышать риск развития острого отторжения [14], предпочтительно использовать плазмозамещающие методики. Это позволит одновременно снизить титры анти-AB0 и анти-HLA антител [15].

### **Фармакологический метод: ритуксимаб, сывороточный иммуноглобулин**

Ритуксимаб – химерные гуманизированные мышинные анти-CD20 моноклональные антитела. Кластер дифференцировки CD20 – трансмем-

бренный домен, который экспрессирован на всех В-лимфоцитах, отсутствует на стволовых клетках крови и не циркулирует в растворимой форме – мишень действия ритуксимаба. Молекулы ритуксимаба обладают высокой аффинностью к молекуле CD20 и после связывания с ней запускают *in vivo* реакцию антитело-зависимой цитотоксичности, комплемент-опосредованную клеточную гибель и апоптоз В-лимфоцитов [16]. Свойство ритуксимаба избирательно снижать содержание В-лимфоцитов в крови используют в качестве индукции иммуносупрессии при АВ0-несовместимой трансплантации солидных органов.

Препарат сывороточного иммуноглобулина человека получают из плазмы тысяч доноров, таким образом добываясь как можно более широкого спектра антител. Считается, что модуляция и модификация процесса активации системы комплемента и клеточного звена иммунитета являются основой противовоспалительного и иммуномодулирующего действия сывороточного иммуноглобулина.

Разработка протокола и выполнение трансплантации органов от доноров, несовместимых по группе крови с реципиентом (АВ0-несовместимые трансплантации), требуют решения ряда научных задач: селективная элиминация антител, угнетение их синтеза *de novo* с применением препаратов моно- и поликлональных антител к иммунокомпетентным клеткам, препаратов иммуноглобулина человека в высоких и сверхвысоких дозах, а также углубленного иммунологического мониторинга на до- и посттрансплантационных этапах.

Для контроля эффективности предтрансплантационной подготовки, коррекции иммуносупрессивной терапии и ранней диагностики иммунологических осложнений обязательным следует считать создание алгоритма динамического контроля уровня донорспецифических антигрупповых, антитканевых и анти-HLA антител, биомаркеров отторжения и толерантности. Необходимо регулярное гистологическое и иммуногистохимическое исследования биоптатов пересаженных органов.

В течение последних лет одной из наиболее актуальных тем фундаментальных исследований в области трансплантационной иммунологии является изучение опосредованного антителами взаимодействия иммунной системы реципиента с аллогенным органом. Ключевые механизмы такого взаимодействия являются сходными для антител разной специфичности: анти-АВ0 антитела, антитела к главному комплексу гистосовместимости (HLA), антитела к эндотелию сосудов трансплантированного органа. Это позволяет с высокой степенью достоверности экстраполировать результаты и вновь выявленные закономерности для одного из звеньев гуморального трансплантационного иммунитета на другие и за счет этого интенсифицировать внедрение новых разработок в практику.

В силу значимости для трансплантологии в условиях дефицита донорских органов наличия положительного клинического опыта в ноябре



2013 года было начато выполнение новой темы государственного задания: «Разработка и усовершенствование технологий трансплантации органов и тканей в условиях тканевой несовместимости и от АВ0-несовместимых доноров», **цель** которой: изучение особенностей реагирования иммунной системы реципиента на АВ0-несовместимые трансплантаты сердца, печени, почки и на основе выявленных закономерностей усовершенствование технологий трансплантации органов в условиях тканевой несовместимости.

### **Задачи исследования**

1. Оценить статус гуморального звена иммунитета у реципиентов почки от АВ0-несовместимого донора до трансплантации, в течение десенсибилизации и в послеоперационном периоде.
2. Изучить динамику уровня антигрупповых антител на этапе подготовки к трансплантации и в послеоперационном периоде и индивидуальные варианты реакции иммунной системы реципиентов в ответ на проводимую десенсибилизацию.
3. Определить значимость фиксации С4d-компонента комплемента в биоптатах трансплантированных органов для диагностики острого антителопосредованного отторжения в условиях АВ0-несовместимости.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследование включены 20 пациентов, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию почки от живого родственного донора. Изъятие, консервацию органов и операции трансплантации проводили, используя стандартные методики и протоколы.

*Основные методы исследования:* сбор анамнеза, клиническая оценка состояния больного, общеклинические и биохимические, иммунологические (общий анализ крови, общий анализ мочи, определение клиренса креатинина, измерение концентрации общего белка, альбумина, активности ферментов аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы, содержания билирубина, общего холестерина и липопротеинов высокой и низкой плотности, триглицеридов, глюкозы, мочевины, микроэлементов (Са, Mg, Р), электролитов, исследование коагулограммы (активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), концентрация фибриногена), бактериологические исследования крови, мочи, отделяемого из зева, анализ на вирусные инфекции (CMV, EBV, HCV, HBV), молекулярно-биологические методы исследования, рентгенологические, магнитно-резонансные, сонографические, патоморфологические методы исследования, иммуногистохимическое исследование биоптатов, статистические методы обработки данных.

*Оперативные вмешательства:* лапароскопическая мануально-ассистированная нефрэктомия, трансплантация почки.

*Используемые средства, материально-техническое оснащение:* история болезни стационарного больного, аппараты для ультразвуковых исследований, фиброгастроуденоскопы, рентгеновские аппараты, хирургический инструментарий, аппараты искусственной вентиляции легких, аппараты для проведения гемодиализа, плазмафереза, иммуноадсорбции, электрокардиограф, пульсоксиметр, микроскопы, лекарственные средства, проточный цитофлюориметр, иммуноферментный анализатор, хемилюминометр, биохимический и гематологический анализаторы, персональные компьютеры, лицензионное статистическое программное обеспечение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе обследования потенциальных доноров для родственной трансплантации почки в 20% случаев возникает потребность в преодолении барьера несовместимости по группе крови.

В исследование включены 20 реципиентов АВ0-несовместимых трансплантатов почки (11 мужчин и 9 женщин), медиана возраста составила 25 лет (от 11 до 45 лет). Причинами развития терминальной стадии хронической почечной недостаточности были: хронический гломеруло-нефрит ( $n = 12$ ), врожденная аномалия развития мочевыделительной системы ( $n = 5$ ), нефропатия неясного генеза ( $n = 3$ ). Большинство пациентов до трансплантации получали заместительную почечную терапию в течение двух и более лет. Двум пациентам выполнена повторная трансплантация почки: первые трансплантаты были получены от умерших доноров и утратили свою функцию.

При обследовании реципиентов установлено, что только в 40% случаев уровень анти-А/В антител классов IgG и IgM не превышал допустимых значений (не более 1:8).

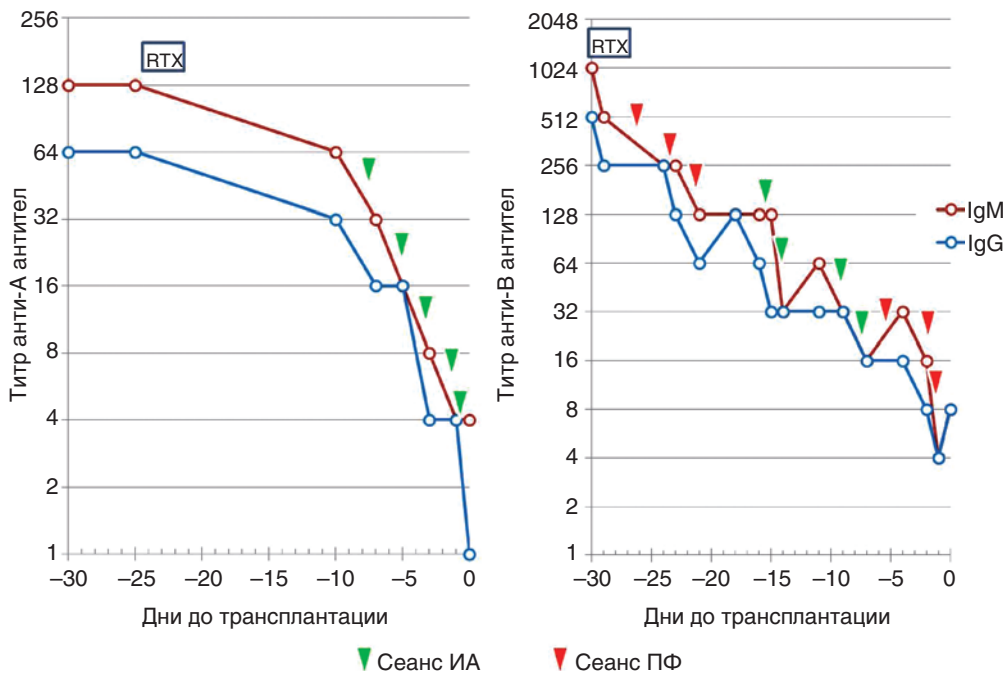
Установлено, что высокий предоперационный уровень анти-А/В антител у кандидатов на АВ0-несовместимую трансплантацию почки зависит:

- от продолжительности заместительной почечной терапии гемодиализом;
- факта трансфузии препаратов крови в анамнезе;
- количества перелитых кандидату препаратов крови.

Также установлено, что высокий (более 1:128) исходный уровень анти-А/В антител во всех наблюдениях сопровождался наличием предсуществующих анти-HLA антител.

Анализ динамики уровней анти-А/В антител в течение предоперационной десенсибилизации позволил выделить 2 типа реагирования гумораль-

ного звена иммунной системы на проводимое лечение. Первый вариант, при котором происходит ступенчатое снижение титра антител, (рис. 1, а) является предиктором благоприятного течения посттрансплантационного периода и свидетельствует о достаточном уровне десенсибилизации. При втором варианте в промежутках между процедурами эфферентной терапии отмечается восстановление, а иногда и превышение исходного уровня антител (рис. 1, б). Такой вариант течения десенсибилизации является индикатором недостаточной индукции медикаментозной иммуносупрессии и серьезным фактором риска развития иммунологических осложнений после трансплантации.



**Рис. 1. Ступенчатое снижение уровня анти-А/В антител (а); циркадная динамика титра анти-А/В антител (б)**

Таким образом, анализ динамики уровня антигрупповых антител на этапе предоперационной подготовки может быть использован для стратификации степени риска иммунологических осложнений после АВ0-несовместимой трансплантации. Последнее является основой своевременной коррекции как индукционной, так и поддерживающей иммуносупрессивной терапии.

Анализ результатов предоперационной десенсибилизации и течения послеоперационного периода позволил создать персонализированный протокол подготовки реципиента к АВ0-несовместимой трансплантации почки (табл.). Использование такого подхода позволяет:

- сократить длительность подготовки кандидатов с исходно низкими титрами анти-А/В антител;
- уменьшить кумулятивную дозу фармпрепаратов в группе несенсибилизированных кандидатов, и соответственно, сократить риски инфекционных осложнений в течение десенсибилизации;
- в группе пациентов высокого иммунологического риска еще на этапе подготовки к трансплантации добиться желаемого уровня угнетения иммунного ответа и, таким образом, минимизировать риски развития отторжения в раннем посттрансплантационном периоде.

Таблица

**Персонализированный протокол подготовки к АВ0-несовместимой трансплантации почки**

Исходный титр анти-А/В антител	Доза RTX	День введения RTX	ПФ	ИА	ИГ	ИА/ПФ после трансплантации
$\leq 1:8$	200–300 мг	-7	нет	нет	0,5 г/кг независимо от исходного титра	Только если титр анти-А/В антител $\geq 1:16$
1:16 – 1:64	500 мг	-10	да	нет		
$\geq 1:128$	375 мг/м <sup>2</sup>	-14	+/-	да		

Во всех наблюдениях функция трансплантатов была немедленной. Медиана наблюдения за пациентами составила 16 месяцев (от 1 до 30 месяцев). Частота острого клеточного отторжения – 10%, острого гуморального отторжения – 5%, что не отличается от аналогичных показателей при трансплантации почки от совместимого по группе крови живого родственного донора.

При проведении иммуногистохимического исследования биоптатов трансплантированных почек в 85% случаев отмечалась четкая линейная фиксация компонента С4d в стенках перитубулярных капилляров. Однако только в одном наблюдении фиксация С4d сопровождалась развитием острого гуморального отторжения. В остальных наблюдениях – клинических, лабораторных, инструментальных и гистологических – признаков протекающего гуморального отторжения обнаружено не было.

У 18 из 20 пациентов на протяжении всего периода наблюдения после трансплантации уровень антигрупповых антител не превышал допустимого безопасного порога 1:8. У двух пациентов отмечено восстановление титра анти-А/В антител до исходного уровня (1:16 и 1:32) (до начала десенсибилизации), при этом трансплантаты функционируют стабильно. Вероятно, данные наблюдения иллюстрируют феномен так называемой «иммуноло-

гической аккомодации» трансплантата – отсутствие иммунного повреждения органа при наличии специфических антител к антигенам А и В.

За период наблюдения все пациенты живы, 2 трансплантата утратили функцию: в одном случае из-за рецидива атипичного гемолитико-уремического синдрома через 3 месяца после операции; во втором случае – через 20 месяцев после операции в результате тяжелого гуморального отторжения, возникшего на фоне несоблюдения пациентом медицинских рекомендаций (самостоятельная отмена иммуносупрессивной терапии). Однолетняя и двухлетняя выживаемость АВ0-несовместимых трансплантатов почки, рассчитанная по методу Каплана–Мейера, составляет 93,5 и 90,3%.

В ходе выполнения исследования разработан оригинальный метод определения уровня антител к антигенам групп крови человека. Подана заявка на патент (регистрационный № 2013117950) «Способ титрования групповых антител системы АВ0».

## ВЫВОДЫ

1. Исходный уровень анти-А/В антител у 60% кандидатов на трансплантацию почки от АВ0-несовместимого донора превышает 1:8, треть из них имеет уровень антигрупповых антител более 1:256. Величина исходного уровня антител отражает напряженность гуморального звена иммунитета и потребность в более интенсивной десенсибилизации и иммуносупрессивной терапии после трансплантации.  
Риск и тяжесть иммунологических осложнений после АВ0-несовместимой трансплантации почки, в первую очередь, связан с исходным уровнем антигрупповых антител и индивидуальными особенностями реагирования иммунной системы реципиента на предоперационную десенсибилизацию.
2. После трансплантации АВ0-несовместимой почки от живого родственного донора при сроках наблюдения до 2,5 года у 90% реципиентов наблюдается полное исчезновение анти-А/В антител. У 10% реципиентов восстановление титра антител до исходных значений, превышающих 1:8, не сопровождается иммунологическими осложнениями и дисфункцией пересаженного органа.
3. Изолированная фиксация компонента С4d комплемента в биоптатах АВ0-несовместимых органов не является однозначным признаком острого гуморального отторжения, а указывает на активацию гуморального звена иммунного ответа и в ряде случаев может сопровождаться развитием иммунологической аккомодации трансплантата.
4. Клинические результаты трансплантации в условиях АВ0-несовместимости с донором не хуже, чем аналогичные показатели при совместимых по группе крови трансплантациях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов НИР на федеральном и региональном уровне позволит увеличить количество трансплантаций на 15–20% за счет более эффективного использования возможностей прижизненного донорства.

### Список использованных источников

1. *Stegall M.D., Dean P.G., Gloor J.M.* ABO-incompatible kidney transplantation // *Transplantation.* – 2004. – 78 (5). – P. 635–640.
2. *Beimler J., Zeier M.* ABO-incompatible transplantation – a safe way to perform renal transplantation? // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2007. – 22 (1). – P. 25–27.
3. *Alexandre G.P. et al.* Present experiences in a series of 26 ABO-incompatible living donor renal allografts // *Transplant. Proc.* – 1987. – 19 (6). – P. 4538–4542.
4. *Takahashi K. et al.* Excellent long-term outcome of ABO-incompatible living donor kidney transplantation in Japan // *Am. J. Transplant.* – 2004. – 4 (7). – P. 1089–1096.
5. *Oriol R.* Tissular expression of ABH and Lewis antigens in humans and animals: expected value of different animal models in the study of ABO-incompatible organ transplants // *Transplant. Proc.* – 1987. – 19 (6). – P. 4416–4420.
6. *Rydberg L.* ABO-incompatibility in solid organ transplantation // *Transfus. Med.* – 2001. – 11 (4). – P. 325–342.
7. *Starzl T.E. et al.* Splenectomy and Thymectomy in Human Renal Homotransplantation // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1963. – 113. – P. 929–932.
8. *Ishida H. et al.* Anti-AB titer changes in patients with ABO incompatibility after living related kidney transplantations: survey of 101 cases to determine whether splenectomies are necessary for successful transplantation // *Transplantation.* – 2000. – 70 (4). – P. 681–685.
9. *Agishi T. et al.* Comparative evaluation of immunoadsorption and double filtration plasmapheresis for removal of anti-A or -B antibody in ABO-incompatible kidney transplantation. Japanese Biosynsorb Research Group. *Transplant Proc.* – 1992. – 24 (2). – P. 557–558.
10. *Higgins R. et al.* Double filtration plasmapheresis in antibody-incompatible kidney transplantation // *Ther. Apher. Dial.* – 2010. – 14 (4). – P. 392–399.
11. *Tanabe K.* Double-filtration plasmapheresis // *Transplantation.* – 2007. – 84 (12 Suppl). – P. S30–2.
12. *Bensinger W.I. et al.* Immunoadsorption for removal of A and B blood-group antibodies // *N. Engl. J. Med.* – 1981. – 304 (3). – P. 160–162.
13. *Сушков А.И., Абрамов В.Ю., Мойсюк Я.Г.* Роль прецедующих и *de novo* антидонорских антител при трансплантации почки // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – 2011. – Т. XIII, № 1. – С. 84–91.

14. *Warren D.S. et al.* Successful renal transplantation across simultaneous ABO incompatible and positive crossmatch barriers // *Am. J. Transplant.* – 2004. – 4 (4). – P. 561–568.
15. *Johnson P., Glennie M.* The mechanisms of action of rituximab in the elimination of tumor cells // *Semin. Oncol.* – 2003. – 30 (1 Suppl 2). – P. 3–8.
16. *Reff M.E. et al.* Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20 // *Blood.* – 1994. – 83 (2). – P. 435–445.

### **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР**

1. *Сушков А.И., Шаршаткин А.В., Азаренкова О.В., Ефимкин А.С., Малахов А.Г., Сайдулаев Д.А., Чичкин И.С., Илжанов М.И., Кандидова И.Е., Квадратова Н.Г., Мойсюк Я.Г.* Преодоление барьера несовместимости по группе крови при трансплантации почки от родственного донора // *Нефрология и диализ.* – 2013. – № 4. – С. 5–19.
2. *Gautier S.V., Poptsov V.N., Saitgareev R.Sh., Shumakov D.V., Zakharevich V.M., Kormer A.J., Khalilulin T.A., Shevchenko O.P., Kuprijanova A.G., Goltz A.V.* ABO-incompatible heart transplantation: necessity or possibility? // *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 261.
3. *Shevchenko O.P.* Plasma levels of growth factors and immune biomarkers in pediatric patients after abo-incompatible living donor liver transplantation [Текст] / O.P. Shevchenko, O.M. Tsirolnikova, I.E. Tsirolnikova, O.E. Gichkun, N.V. Kuncovich, R.M. Kurabekova, S.V. Gautier // *Transplant International.* – 2013. – Vol. 26. – S2. – P. 181.
4. *Shevchenko O.P.* Pre- and postoperative management in ABO-incompatible pediatric living donor liver transplantation [Текст] / S.V. Gautier, O.M. Tsirolnikova, I.E. Tsirolnikova, D.G. Akhaladze, O.V. Silina, O.P. Shevchenko // *Transplant International.* – 2013. – Vol. 26. – S2. – P. 181.





---

# **РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**

---

# **СИСТЕМНЫЙ МИКРО- И НАНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ (по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Агапов И.И., Ефимов А.Е.*

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

---

**Сканирующая зондовая микроскопия, наноструктурированные полимерные матрицы, низкотемпературная ультрамикротомия, нанотомография, полимерные материалы для регенеративной и заместительной медицины.**

---

**Объект исследования:** биополимерные матриксы для регенеративной и заместительной медицины, полимерные нанокompозиты.

**Цель работы:** разработка экспериментального аппаратно-методического комплекса для реализации нанотомографии – трехмерного многопараметрического анализа объемных наноразмерных структур в различных биологических и полимерных материалах на основе объединения методов сканирующей зондовой микроскопии и технологий модификации поверхности изучаемых объектов, в частности криоультрамикротомии.

Разработаны методика подготовки образцов, исследований и реконструкции трехмерных структур микро- и нанопористых биополимерных матриксов и методология исследования характеристик связности и топологии систем микро- и нанопор; методика исследования характеристик трехмерного распределения фиксированных адгезированных клеток в микропористых биополимерных матриксах. Отработан метод подготовки образцов биопсии тканей и клеточных культур для исследований при низких температурах (до  $-190$  °C). Представлены методики исследования трехмерного распределения наночастиц и их конгломератов в полимерных матрицах; методики комплементарного анализа наноструктур методами сканирующей зондовой нанотомографии и оптической микроспектроскопии.

**Степень внедрения:** результаты исследования внедрены в научную практику отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии и лаборатории бионанотехнологий ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова»

Минздрава России, используются для выполнения научных тем госзадания Минздрава России, а также для обучения студентов и аспирантов кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

**Эффективность:** оптимизация разработок по созданию новых биосовместимых и биodeградируемых материалов с заданными физико-химическими и биологическими характеристиками.

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование микро- и наноструктуры полимерных и биополимерных материалов имеет ключевое значение для ряда задач в различных областях структурной биологии, медицинской диагностики, создания и изучения новых биологических материалов для заместительной и регенеративной медицины. При этом важнейшим требованием для микроскопических исследований подобных материалов (а также биологических объектов, гидратированных гелевых материалов и наноэмульсий) является сохранение и стабилизация ненарушенной нативной структуры на макромолекулярном уровне как при подготовке объектов, так и при самих измерениях.

В настоящее время изучение и диагностика нативных структур мягких биологических и полимерных материалов с наноразмерным разрешением сталкивается с рядом сложностей. Серьезными принципиально нерешенными задачами подобного плана являются: 1) анализ объемного распределения физических свойств и морфологии наноразмерных структур в биологических объектах и биополимерных материалах; 2) анализ трехмерного распределения наночастиц и нанокластеров в полимерных и биополимерных матрицах, в том числе применяемых в средствах доставки лекарственных веществ; 3) исследование трехмерной структуры микро- и нанопористых биополимерных матриц. Низкотемпературная микроскопия высокого разрешения на сегодняшний день является самым мощным инструментом для достижения этой цели. Применяемые в настоящее время для подобных исследований методы ПЭМ и электронной томографии кроме несомненных достоинств имеют и ряд недостатков и ограничений, вызванных физическими принципами измерений и формирования контраста в данных методах, трудоемкостью подобных работ, а также чрезвычайно высокой стоимостью оборудования для исследований [1, 2]. Методы сканирующей зондовой микроскопии – неразрушающего анализа поверхности с наноразмерным разрешением – позволяют обойти многие ограничения электронной микроскопии: механические нарушения структуры образцов, повреждения электронным пучком, слабый электронно-микроскопический контраст. Такие ограничения особенно проявляются в задачах анализа биологических и полимерных материалов, состоящих преимущественно из легких химических элементов [3, 4]. Ранее методы СЗМ не совмещались *in situ* с методами низкотемпературной подготов-

ки образцов (криоультрамикротомии), что критично для анализа ненарушенных нативных структур объектов.

Существующие методы ультрамикротомии позволяют получать сверхтонкие срезы поверхности различных материалов толщиной от 25 до 500 нм. В настоящее время эта технология широко применяется главным образом для изучения сверхтонких срезов методами просвечивающей электронной микроскопии. Важным обстоятельством является тот факт, что сохранение нативной структуры большинства биополимеров и биоматериалов требует применения криоультрамикротомии, при которой срезы производятся при низких температурах (до  $-190\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Объединение техники ультрамикротомии с последовательным анализом поверхности наноразмерных структур после произведенного среза методом сканирующей зондовой микроскопии позволит получать последовательность послойных изображений – карт распределения морфологии и физических свойств изучаемых объектов на поверхности с шагом, ограниченным минимальной толщиной среза ( $<25\text{ нм}$ ), что и определяет в данном случае аксиальное разрешение методики. Разрабатываемая нами технология позволяет восстанавливать трехмерные структуры объектов в объеме материала за счет измерений поверхности после последовательных сверхтонких срезов. Причем в отличие от электронной томографии в данной технологии нет принципиальных ограничений на толщину анализируемого объема. Использование специализированного программного обеспечения дает возможность объединить серию получаемых изображений в визуализированное трехмерное представление наноразмерных структур и получить информацию о трехмерном распределении ряда физических свойств в объеме нанокompозитных биоматериалов [5, 6].

В ходе выполнения НИР в 2012 г. были успешно выполнены следующие задачи: 1) отработка стабильной технологии получения последовательностей послойных изображений – карт распределения морфологии и физических свойств изучаемых материалов и структур на поверхности с шагом, определяемым минимальной толщиной среза при низких температурах; 2) разработка методов визуализации трехмерного представления нативных наноразмерных структур с использованием специализированного программного обеспечения; 3) разработка методов подготовки водосодержащих объектов для сохранения нативной структуры при низкотемпературных исследованиях; 4) изучение возможностей применения метода сканирующей зондовой нанотомографии при низких температурах для исследования трехмерных матриксов из полимерных и биологических (водосодержащих) материалов.

Полученные в 2012 г. результаты продемонстрировали, что разработанный метод низкотемпературной сканирующей зондовой нанотомографии может быть использован для визуализации и исследования трехмерных нативных наноструктур в объеме полимерных биодеградируемых

матрикс-носителей, а также ряда других полимерных и биологических материалов в целях повышения эффективности разработок по созданию новых биосовместимых и биodeградируемых материалов с заданными физико-химическими и биологическими характеристиками.

Цель исследования в 2013 г.: разработка экспериментального аппаратно-методического комплекса для реализации нанотомографии – трехмерного многопараметрического анализа объемных наноразмерных структур в различных биологических и полимерных материалах. В основе предлагаемой методики лежит объединение методов СЗМ и технологий модификации поверхности изучаемых объектов, в частности криоультрамикротомии – получения сверхтонких (20–100 нм) срезов при низких температурах, а также методики комплементарного анализа изучаемых объектов с помощью электронной микроскопии и просвечивающей микроспектроскопии. Так как большинство мягких полимерных и биоматериалов позволяют производить микротомирование только при низких температурах (до  $-190\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), данный метод является единственным способом получения ключевой информации о морфологии и объемном распределении физических свойств в структурах многих нанокompозитов, в том числе полимерных биосовместимых матрикс и гидратированных (например гелевых) материалов, используемых в качестве клеточных носителей в восстановительной и заместительной хирургии.

### **Задачи исследования**

1. Разработать методы подготовки биополимерных материалов для исследования наноструктуры поверхности с помощью сканирующей зондовой и электронной микроскопии. Отработать метод СЗНТ при низких температурах для исследования мягких микропористых и микроволокнистых биосовместимых трехмерных носителей.
2. Исследовать трехмерную наноструктуру биополимерных носителей с клетками и трехмерное распределение клеток в пористых биodeградируемых носителях с помощью методов СЗНТ.
3. Исследовать трехмерные наноструктуры и распределение наночастиц в трехмерных полимерных носителях в зависимости от наноморфологии носителей с помощью методов оптической микроспектроскопии и СЗНТ.
4. Отработать метод СЗНТ при низких температурах и методы подготовки объектов для исследования трехмерных наноструктур в биотканях и клетках.

Основные методы исследования: сканирующая зондовая микроскопия, сканирующая зондовая нанотомография при низких температурах, криоультрамикротомия, электронная микроскопия, оптическая микроспектроскопия.

Используемые средства, материально-техническое оснащение: криоультрамикротом Leica EM UC6/FC6 (Leica Microsystems GmbH, Австрия), совмещенный с прототипом криоСЗМ для сканирующей зондовой нанотомографии; зондовая нанолaborатория Ntegra Tomo (NT-MDT, Москва); сканирующий зондовый микроскоп NST Certus; атомно-силовой микроскоп Solver P47 (NT-MDT, Москва); сканирующий электронный микроскоп Jeol JSM 6360 LA (Jeol, Япония), оптический микроскоп Opton, model CX41RF-3; комплект оборудования для оптической и атомно-силовой микроскопии, центрифуги, рН-метры, весы, мешалки, инкубаторы, оборудование для клеточной биологии (стерильные боксы, CO<sub>2</sub>-инкубатор), холодильники, морозильники, хроматографы, оборудование для получения особо чистой воды, спектрофотометр, автоматические пипетки; персональные компьютеры, лицензионное программное обеспечение.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

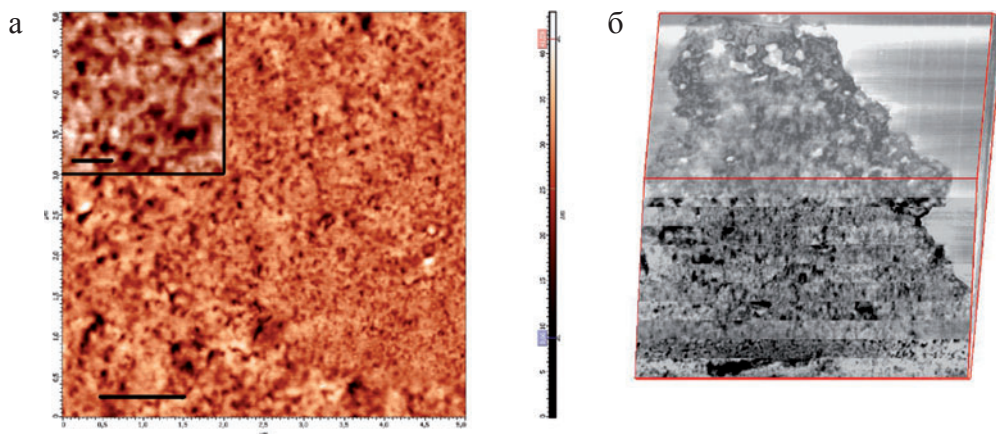
Отработана методика подготовки образцов для измерений, и выполнены исследования методами СЗМ и СЗНТ поверхности, поперечных срезов и трехмерных структур биополимерных пленок, а также трехмерных структур мягких микропористых и микроволокнистых биополимерных матриц. Для исследований использованы пленки и трехмерные биополимерные матрицы на основе спидроина (рекомбинантного белка паутины). Отработана методология исследования характеристик топографии поверхности и топологии систем микропор (с характерными размерами 1–20 мкм) и нанопор (с характерными размерами 10–100 нм) в подобных биосовместимых материалах. Выполненное исследование показало, что среднее количество нанопор на единицу площади на срезах стенок матрикса на основе спидроина составляет 65 мкм<sup>2</sup>. Большая часть нанопор на СЗМ-изображениях срезов спидроинового матрикса соединяются наноканалами (вставка на рис. 1а). 3D-реконструкция объемной структуры с помощью сканирующей зондовой нанотомографии демонстрирует, что в объеме стенок матрикса на основе спидроина существует трехмерная сеть сообщающихся наноканалов (рис. 1б).

Такие характеристики, как трехмерное распределение, связность и средние размеры микроразмерных и наноразмерных пор (каналов) в объеме матрикса имеют важнейшее значение для его биологических свойств и возможностей применения материалов в целях регенеративной медицины. Отработана также методика подготовки образцов для измерений и выполнены исследования методами СЗМ и СЗНТ поверхности, поперечных срезов и трехмерных структур мягких микропористых биополимерных матриц с фиксированными клетками. Для исследований использованы трехмерные биополимерные матрицы на основе спидроина (рекомбинантного белка паутины). Отработана методология исследова-

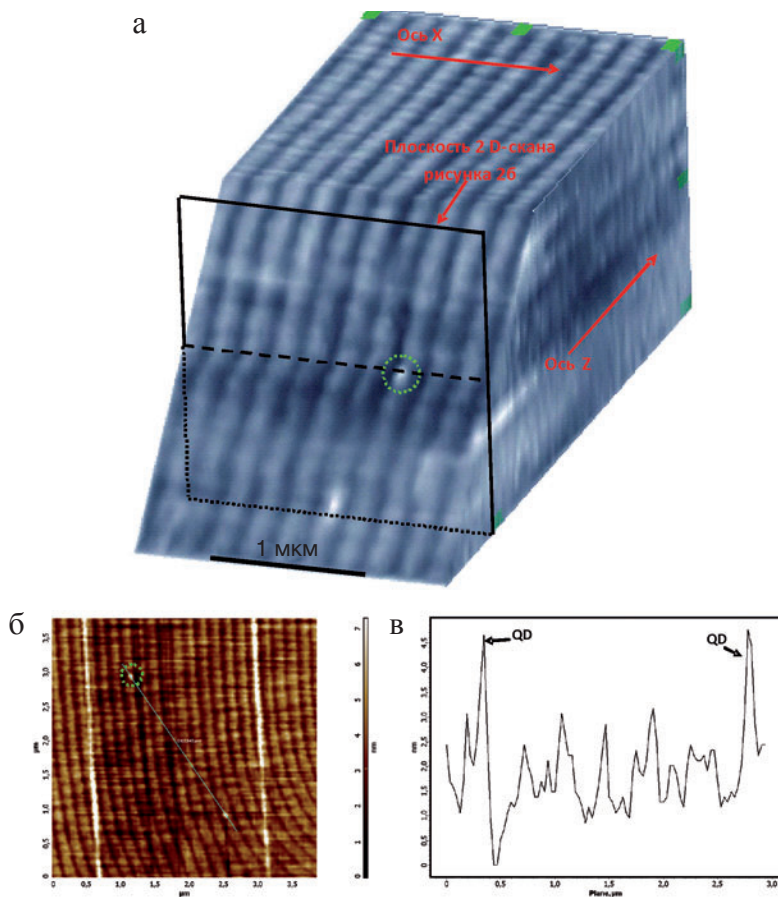
ния характеристик трехмерного распределения адгезированных клеток в подобных биосовместимых матриксах.

Разработана методика подготовки образцов биопсии тканей для исследований с помощью методов сканирующей зондовой микроскопии и нанотомографии при низких температурах (до  $-190\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Методика включает инкубацию образцов биопсии тканей миокарда крупного рогатого скота размерами не более  $3\text{ мм}^3$  в растворе сахарозы с молярной концентрацией  $2,3\text{ М}$  в течение  $24\text{ ч}$  при температуре  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после чего образцы замораживались при температуре  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Подобная методика подготовки образцов позволяет избежать образования кристаллов льда, разрушающих нативные биологические структуры клеток и матрикса исследуемой ткани.

Использована методика исследования трехмерного распределения единичных наночастиц и их конгломератов в полимерных матриксах методами СЗНТ и коррелятивной оптической микроспектроскопии. Исследовались жидкокристаллические холестерические полимерные матрицы с имплантированными наночастицами – флуоресцентными квантовыми точками CdSe/ZnS диаметром  $5\text{ нм}$  (рис. 2). Отработана методика комплексного анализа данных о трехмерной морфологии наногибридных материалов, полученных методом сканирующей зондовой нанотомографии и данных оптической микроспектроскопии (включая ПОМ и флуоресцентную микроспектроскопию), полученных на одном и том же микроучастке объекта. Это позволяет установить корреляцию между трехмерной морфологией наноструктур в объеме материалов и их локальными оптическими свойствами.



**Рис. 1.** СЗМ-изображение поверхности матрикса на основе спироина после среза ультрамикротомом,  $5,0 \times 5,0\text{ мкм}$ , размерный отрезок –  $1\text{ мкм}$ , размерный отрезок на вставке –  $200\text{ нм}$  (а); 3D-реконструкция объемной структуры стенки матрикса (б)



**Рис. 2.** 3D-реконструкция периодической структуры холестерической жидкокристаллической матрицы допированной КТ в области планарной структуры. Z – направление перпендикулярно оси холестерической спирали ЖК-матрицы (ось X). На переднем угловом срезе единичная КТ выделена зеленым кружком (а). Один из 2D-СЗМ-сканов, использованный для построения изображения 2а, выбранный таким образом, что на нем присутствует приведенная на переднем угловом срезе 2а единичная КТ – также выделена зеленым кружком (б). Поперечное сечение изображения 2б (в)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты демонстрируют, что разработанный метод низкотемпературной сканирующей зондовой нанотомографии может быть использован для визуализации и исследования трехмерных нативных на-



ноструктур в объеме микро- и нанопористых полимерных биodeградируемых матриц-носителей, а также биологических объектов (клеточных культур и биопсии тканей). Использование метода низкотемпературной сканирующей зондовой нанотомографии для анализа характеристик топографии поверхности и топологии систем микро- и нанопор позволит повысить эффективность разработок по созданию новых биосовместимых и биodeградируемых материалов с заданными физико-химическими и биологическими характеристиками.

Использование метода сканирующей зондовой нанотомографии в корреляции с техниками оптической микроспектроскопии позволит изучать характеристики трехмерного распределения флюоресцентных наночастиц в биологических объектах и биополимерных материалах с разрешением 10–20 нм. Функционализированные наноматериалы с подобными свойствами все шире применяются в качестве флюоресцентных биомаркеров в современных методах структурной биологии и медицинской диагностики. Возможность изучения их распределения в объеме биологических объектов и материалов с подобной точностью может предоставить существенные преимущества для развития данных диагностических методов.

Результаты исследования внедрены в научную практику отдела биомедицинских технологий и тканевой инженерии и лаборатории бионанотехнологий ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, используются для выполнения научных тем госзадания Минздрава России, а также для обучения студентов и аспирантов кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

### Список использованных источников

1. *Pilhofer M., Ladinsky M.S., McDowell A.W., Jensen G.J.* Bacterial TEM: new insights from cryo-microscopy // *Methods Cell Biol.* 96, 21–45 (2010). DOI: 10.1016/S0091-679X(10)96002-0.
2. *Bouchet-Marquis C., Hoenger A.* Cryo-electron tomography on vitrified sections: a critical analysis of benefits and limitations for structural cell biology. *Micron* 42 (2), 152–162 (2011). DOI: 10.1016/j.micron.2010.07.003.
3. *Matsko N.* Atomic force microscopy applied to study macromolecular content of embedded biological material. *Ultramicroscopy* 107, 95–105 (2007). DOI: 10.1016/j.ultramicro.2006.05.009.
4. *Gallyamov M.O.* Scanning Force Microscopy as Applied to Conformational Studies in Macromolecular Research, *Macromolecular Rapid Communications*. – 2011. – Vol. 32, 16. – P. 1210–1246. DOI: 10.1002/marc.201100150.
5. *Alekseev A., Efimov A., Lu K., Loos J.* Three-dimensional electrical property reconstruction of conductive nanocomposites with nanometer resolution // *Advanced Materials*. – Vol. 21. – 48 (2009). – P. 4915–4919.

6. *Efimov A.E., Tonevitsky A.G., Dittrich M., Matsko N.B.* Atomic force microscope (AFM) combined with the ultramicrotome: a novel device for the serial section tomography and AFM/TEM complementary structural analysis of biological and polymer samples // *J. of Microscopy.* – Vol. 226. Pt 3, June 2007. – P. 207–217.

## **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР**

1. *Mochalov K.E., Efimov A.E., Bobrovsky A., Agapov I.I., Chistyakov A.A., Oleinikov V., Sukhanova A., Nabiev I.* Combined scanning probe nanotomography and optical microspectroscopy: a correlative technique for 3d characterization of nanomaterials, *acs nano.* – 2013. – 7 (10). – P. 8953–8962, Doi: 10.1021/Nn403448p.
2. *Linkov P., Artemyev M., Efimov A.E., Nabiev I.* Comparative advantages and limitations of the basic metrology methods applied to characterization of nanomaterials, *nanoscale*, 2013, 5 (19), 8781–8798, doi: 10.1039/C3nr02372a.
3. *Мойсенович М.М., Агапов И.И., Рамонова А.А., Ольшевская В.А., Калинин В.Н., Штиль А.А., Кирпичников М.П.* Влияние ризина на фотодинамическое повреждение плазматической мембраны, доклады Академии наук (биохимия, биофизика, молекулярная биология). – 2013. – Т. 449, № 2. – С. 228–231, Doi: 10.7868/S0869565213080264.
4. *Mochalov K.E., Efimov A.E., Bobrovsky A.Yu., Agapov I.I., Chistyakov A.A., Oleinikov V.A., Nabiev I.* High-resolution 3d structural and optical analyses of hybrid or composite materials by means of scanning probe microscopy combined with the ultramicrotome technique: an example of application to engineering of liquid crystals doped with fluorescent quantum dots, *proceedings spie 8767, integrated photonics: materials, devices, and applications ii*, 876708 (2013), doi:10.1117/12.2017088/
5. *Antonenko Y.N., Kotova E.A., Omarova E.O., Rokitskaya T.I., Ol'shevskaya V.A., Kalinin V.N., Nikitina R.G., Osipchuk J.S., Kaplan M.A., Ramonova A.A., Moisenovich M.M., Agapov I.I., Kirpichnikov M.P.* Photodynamic activity of the boronated chlorin e6 amide in artificial and cellular membranes, *biochimica et biophysica acta (bba) – biomembranes*, 2013, doi: 10.1016/J.Bbamem.2013.11.012.
6. *Сургученко В.А., Пономарева А.С., Ефимов А.Е., Немец Е.А., Агапов И.И., Севастьянов В.И.* Особенности адгезии и пролиферации фибробластов мыши линии nih/3т3 на пленках из бактериального сополимера поли(3-гидроксипропионат-со-3-гидроксибутират) с различной шероховатостью поверхности // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – 2012. – Т. XIV, № 1. – С. 72–77.
7. *Efimov A.E., Gnaegi H., Schaller R., Grogger W., Hofer F., Matsko N.B.* Analysis of native structure of soft materials by cryo scanning probe tomography, *soft matter*, 2012, 8, 9756–9760, doi:10.1039/C2sm26050f.
8. *Moisenovich M.M., Pustovalova O., Shackelford J., Vasiljeva T.V., Druzhinina T.V., Kamenchuk Y.A., Guzeev V.V., Sokolova O.S., Bogush V.G., Debabov V.G., Kirpichnikov M.P., Agapov I.I.* Tissue regeneration in vivo within recombinant spideroin1 scaffolds // *biomaterials.* – 2012. – 33 (15). – P. 3887–3898.

9. *Kolotova E.S., Egorova S.G., Ramonova A.A., Bogorodski S.E., Popov V.K., Agapov I.I., Kirpichnikov M.P.* Cytotoxic and immunochemical properties of viscumin encapsulated in polylactide microparticles // *Acta naturae*. – 2012. – 4 (1). – P. 101–106.
10. *Lashkov A.A., Sotnichenko S.E., Prokofiev I.I., Gabdulkhakov A.G., Agapov I.I., Shtil A.A., Betzel C., Mironov A.S., Mikhailov A.M.* X-ray structure of salmonella typhimurium uridine phosphorylase complexed with 5-fluorouracil and molecular modelling of the complex of 5-fluorouracil with uridine phosphorylase from vibrio cholera. *Acta crystallographica section d biological Crystallography*. – 2012. – Vol. 68. – P. 968–974.

# **РАЗРАБОТКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗ КУЛЬТУР ОСТРОВКОВЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ НОСИТЕЛЕЙ С ЦЕЛЮ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ $\beta$ -КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

**(по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Скалацкий Н.Н., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И.*

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

---

**Поджелудочная железа, культуры островковых клеток, биополимерный матрикс, экспериментальный сахарный диабет, эндометриальные регенеративные клетки.**

---

**Объектами исследования** являются культуры островковых клеток новорожденных кроликов и биополимерный гетерогенный коллагенсодержащий гидрогель (биоматрикс) как основные компоненты тканеинженерной конструкции поджелудочной железы, культуры эндометриальных регенеративных (стволовых) клеток человека, крысы с экспериментальным сахарным диабетом, поджелудочная железа таких крыс.

**Целью** данной работы является разработка тканеинженерных конструкций поджелудочной железы из культур островковых клеток и биоматрикса, а также влияние их трансплантации на процессы регенерации  $\beta$ -клеток у животных с экспериментальным сахарным диабетом.

В процессе выполнения НИР в 2013 г. выполнены следующие работы.

1. Проведены исследования по совместной инкубации культур островковых клеток (ОК) поджелудочной железы кроликов и культур стволовых клеток человека в стандартных условиях. В качестве объектов исследования были выбраны культуры ОК, полученные из поджелудочной железы новорожденных кроликов, и культуры эндометриальных регенеративных

(стволовых) клеток (ЭПК) человека, предоставленные в рамках сотрудничества с компанией Medistem Inc., San Diego, USA.

2. Исследована возможность спонтанной регенерации ОК у лабораторных крыс со стабильным экспериментальным сахарным диабетом. Определено влияние трансплантации культур ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов на течение экспериментального сахарного диабета и на процессы регенерации в поджелудочной железе крыс-реципиентов.

3. Изучено влияние внеклеточных компонентов культур ОК на рост и дифференцировку культур ЭПК.

4. Изучено влияние биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля на рост и дифференцировку клеток *in vitro* в опытах с флотирующими культурами ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов.

## ВВЕДЕНИЕ

**Целью данной работы** является разработка тканеинженерных конструкций поджелудочной железы из культур островковых клеток и биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля (биоматрикса), а также влияние их трансплантации на процессы регенерации  $\beta$ -клеток у животных с экспериментальным сахарным диабетом.

**Объектами исследования** являются культуры островковых клеток новорожденных кроликов и биополимерный матрикс как основные компоненты тканеинженерной конструкции поджелудочной железы, культуры эндометриальных регенеративных (стволовых) клеток человека, крысы с экспериментальным сахарным диабетом, поджелудочная железа таких крыс.

На первом этапе НИР были проведены исследования по разработке наиболее продуктивных методов получения культур островковых клеток поджелудочной железы. В качестве доступной и перспективной лабораторной донорской модели были использованы кролики, получаемые из специализированного питомника РАМН. На основании детальных морфологических исследований поджелудочной железы кроликов различного возраста было определено, что оптимальным источником островковых клеток и наиболее приемлемым объектом культивирования является поджелудочная железа 1–3-дневных новорожденных кроликов.

С учетом структурных особенностей поджелудочной железы новорожденных кроликов были разработаны методические подходы, обеспечивающие получение различного типа культур, содержащих как гормонально-активные островковые клетки, так и прогениторные клетки, являющиеся предшественниками островковых клеток.

Предварительные исследования показали хорошую совместимость культур островковых клеток с биополимерным коллагенсодержащим ге-

терогенным матриксом, в качестве которого была выбрана композиция имплантируемого гетерогенного геля Сферогель<sup>®</sup>, и выявили его положительное влияние на выживаемость *in vitro* прогениторных клеток поджелудочной железы.

Отработана воспроизводимая экспериментальная модель сахарного диабета 1-го типа, которая при дробном введении диабетогенного препарата стрептозотоцина обеспечивает стабильное и длительное сохранение выраженного диабетического статуса.

В рамках темы настоящего госзадания продолжена работа по получению культур, содержащих максимально возможное количество гормонально-активных островковых клеток и минимальное количество балластных и иммуногенных клеточных элементов. В большей степени этим требованиям соответствуют флотирующие (свободно плавающие) культуры, полученные нами из поджелудочной железы новорожденных кроликов. Уникальность таких культур обуславливает интерес в их использовании в различных экспериментальных исследованиях. Ниже будут описаны опыты по совместному культивированию культур островковых клеток и стволовых клеток человека, культуры которых, как заявлено их создателями, обладают высокой степенью пластичности и способности к дифференцировке. Будут приведены данные по спонтанным регенерационным процессам, происходящим в поджелудочной железе крыс с экспериментальным сахарным диабетом и влиянии на эти процессы ксенотрансплантации культур островковых клеток.

Наконец, будет описан важнейший этап создания тканеинженерной конструкции поджелудочной железы – изучение влияния биоматрикса на рост флотирующих культур островковых клеток.

В 2013 году основными задачами исследования были:

- разработка методов получения различного типа культур из поджелудочной железы и изучение их совместимости с биоматриksom;
- изучение процесса спонтанной регенерации островковых клеток в поджелудочной железе животных с экспериментальным сахарным диабетом;
- изучение влияния биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля в качестве потенциального матрикса тканеинженерной конструкции поджелудочной железы (ТИК ПЖ) на рост и дифференцировку клеток *in vitro* в опытах с культурами ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов.

## **КРАТКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В настоящее время клеточная трансплантация является одним из наиболее интенсивно развивающихся научных направлений в биологии

и медицине. Одновременное наступательное развитие науки о биоматериалах сделало реальной разработку клеточно-инженерных и тканеинженерных конструкций (ТИК) [1]. В качестве тканевого компонента при создании ТИК применяют, как правило, культуры клеток, входящих в состав регенерируемой ткани или являющихся их предшественниками. Помимо клеточной культуры в состав ТИК входит специальный носитель (матрикс, каркас, матрица). Матрикс могут быть выполнены из различных биосовместимых материалов. Большинство из них являются биodeградируемыми, при этом в процессе их резорбции не должны образовываться промежуточные продукты, обладающие токсичностью, резко изменяющие pH среды или ухудшающие рост и дифференцировку клеточной культуры. Клетки полученной культуры наносятся на матрицу, после чего такая трехмерная структура может быть перенесена в биореактор с питательной средой, где инкубируется в течение определенного времени. Другим вариантом создания ТИК может быть наложение прокультивированных клеток на матрицу, помещенную в культуральный флакон или пробирку с последующим добавлением питательной среды и инкубацией в стандартных условиях. Проведенные в последние годы исследования показали, что в полной мере качествами, необходимыми для матрицы, входящей в состав ТИК, обладает коллагенсодержащая композиция гетерогенного имплантируемого геля (торговая марка «Сфера®ГЕЛЬ», производитель ЗАО «БИОМИР сервис», Россия).

Коллагенсодержащую композицию гетерогенного имплантируемого геля получают из гидролизата эмбриональных или постнатальных коллагенсодержащих тканей животного происхождения, исключая человека, причем он состоит из двух составляющих: твердой – микрочастиц из сшитого гидролизата и жидкой – из исходного гидролизата, взятых в определенном соотношении [Патент РФ на изобретение № 2433828].

Формирование гетерогенной структуры гидрогеля позволило существенно увеличить время его биорезорбции по сравнению с биоимплантатами из коллагена, рассасывающимися в течение 3–4 недель.

*Сфера®ГЕЛЬ* относится к классу биополимерных имплантатов и предназначен для замещения и восполнения объемов мягких тканей, происходящих за счет стимуляции синтеза собственного внеклеточного матрикса жизнеспособными клетками. Так, например, была показана перспективность применения *Сфера®ГЕЛЬ* в качестве биodeградируемого матрикса при создании клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани [2] и клеточно-инженерной конструкции печени [3]. Эти данные, а также проведенные нами предварительные исследования позволяют надеяться на реальность создания ТИК поджелудочной железы, которая найдет применение в лечении сахарного диабета.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Донорами поджелудочной железы служили 1–3-дневные новорожденные кролики, доставленные из специализированного питомника ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА. Культуры островковых клеток (ОК) поджелудочной железы получали с помощью ранее разработанного нами метода [4]. Культуры эндометриальных регенеративных (стволовых) клеток (ЭРК) человека были предоставлены в рамках сотрудничества компанией Medistem Inc., San Diego, USA. В опытах по совместной инкубации культур ОК и ЭРК использовали стандартную пластиковую лабораторную посуду (культуральные флаконы, пипетки и др.) фирмы Corning. В качестве питательной среды использовали среду 199.

В качестве микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогелевого матрикса (МКГМ) использовали специально разработанную для клеточных технологий композицию имплантируемого гетерогенного геля линейного ряда *Сфера*<sup>®</sup>ГЕЛЬ (ЗАО «БИОМИР сервис», Россия), представляющую собой находящийся в шприце стерильный прозрачный, слегка опалесцирующий, вязкий, рН-сбалансированный гидрогель с зернистой структурой. Средний размер микрочастиц –  $150 \pm 20$  мкм, вязкость МКГМ –  $62,9 \pm 7,9$  Па и рН =  $6,8 \pm 0,1$ .

Для проведения опытов использовали оригинальные культуральные пробирки конической формы с горизонтальным дном площадью 10 см<sup>2</sup> (фирма TRP, Швейцария).

Два миллилитра биоматрикса выдавливали из стерильного шприца и равномерно распределяли по дну культуральной пробирки. Затем флотирующую фракцию культуры, сформировавшуюся к 12-м суткам инкубации 40 измельченных поджелудочных желез новорожденных кроликов, наслаивали на МКГМ, покрывая всю его поверхность. После добавления 7–8 мл ростовой среды 199 (без сыворотки) пробирку помещали в инкубатор с увлажненной атмосферой, содержащей 5% CO<sub>2</sub>.

Смена среды проводилась каждые 2–3 дня. Наблюдение за культурой ОК, инкубируемой вместе с биоматриksom, проводили в инвертированном микроскопе NikonEclipseTS 100 путем ежедневного мониторинга, и значимые изменения фиксировали с помощью цифровой фотокамеры. Для гистологического исследования на определенных сроках совместной инкубации культуры и МКГМ (7 и 14 дней) материал фиксировали в жидкости Буэна. После рутинной процедуры обезвоживания образцы заливали в парафин. Среды толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с пероксидазой хрена для выявления основных типов ОК с использованием соответствующих моноклональных антител: antiinsulin и antiglucagon (Sigma). Для выявления протокового эпителия ок-



рашивание препаратов на цитокератин 19 осуществляли с использованием Novocastra Concentrated Peroxidase Detection System (RE 7130-K, Leica Microsystems), следуя инструкции производителя. Предварительно перед окрашиванием депарафинированные срезы подвергали ретривизации инкубацией в 0,1%-ном растворе трипсина при 37° в течение 30 минут.

Экспериментальный сахарный диабет вызывали у крыс линии Wistar с помощью дробного внутривнутрибрюшинного введения стрептозотоцина (70 мг на 1 кг массы тела в течение 5 дней подряд). Гликемию определяли глюкометром One Touch Ultra. Гистологическое исследование поджелудочной железы подопытных животных проводили классическим способом, окрашивая парафиновые срезы гематоксилином и эозином, а также альдегидфуксином и по Хелми с целью выявления островковых бета- и альфа-клеток.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### ***Исследования по совместной инкубации культур островковых клеток поджелудочной железы кроликов и культур стволовых клеток человека***

Инкубация культур островковых клеток (ОК) поджелудочной железы новорожденных кроликов и культур эндометриальных регенеративных (стволовых) клеток (ЭРК) человека была проведена в стандартных условиях.

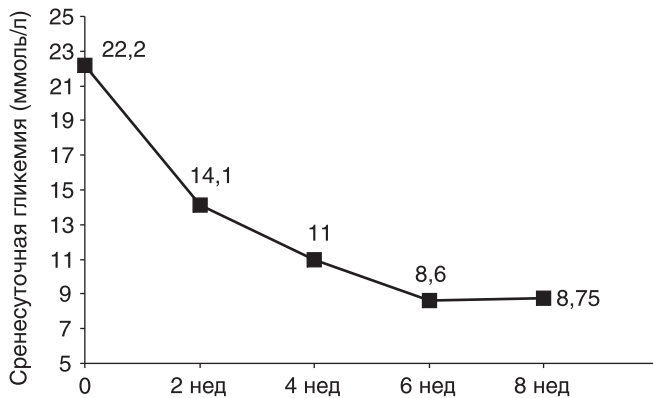
Динамическое наблюдение с помощью инвертированного микроскопа 4-недельного совместного культивирования ЭРК и ОК выявило значительно бóльшую способность ОК к сохранению морфологической целостности и росту по сравнению с ЭРК, которые, в противоположность ОК, неуклонно деградировали. К концу наблюдения разреженные однослойные культуры ЭРК как бы сворачивались, образуя трехмерные структуры, всплывали и удалялись при смене питательной среды как детрит.

### ***Исследование возможной спонтанной регенерации островковых клеток в поджелудочной железе лабораторных крыс со стабильным экспериментальным сахарным диабетом. Изучение влияния трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов на течение экспериментального сахарного диабета и на процессы регенерации в поджелудочной железе крыс-реципиентов***

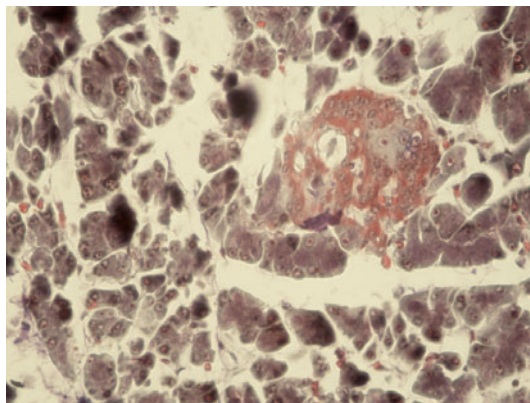
Гистологические исследования показали, что морфологической основой стабильно тяжелого течения экспериментального сахарного диабета является массовая гибель панкреатических островков. Умеренно выраженные регенерационные процессы заключались в частичном восстановлении глюкагонсекретирующих альфа-клеток островков, в то время как

признаков регенерации инсулинсекретирующих бета-клеток обнаружено не было.

Определено влияние трансплантации культур ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов на течение экспериментального сахарного диабета и на процессы регенерации в поджелудочной железе у лабораторных животных. Установлено, что внутрибрюшинное введение крысам с индуцированным диабетом ксеногенных культур ОК приводило к значительному снижению уровня гипергликемии, которое сохранялось, по меньшей мере, на протяжении 8 недель (срок опыта) после трансплантации (рис. 1).



**Рис. 1.** Изменения гликемии после трансплантации культур ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов

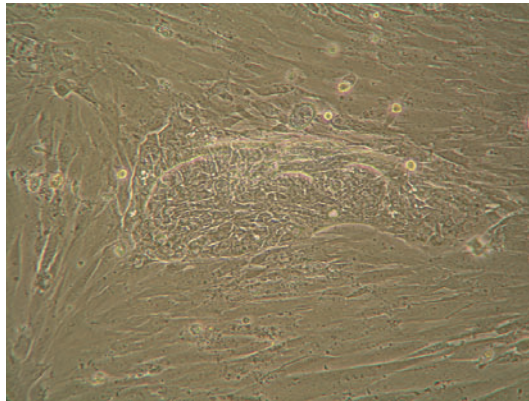


**Рис. 2.** Выраженная регенерация альфа-клеток и частичная – бета-клеток в островке поджелудочной железы крысы с экспериментальным сахарным диабетом после трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов. Окрашивание альдегидфуксином и смесью Хелми.  $\times 200$

Гистологический анализ выявил в островках поджелудочной железы крыс-реципиентов выраженные проявления регенерации альфа-клеток и частичное восстановление пула бета-клеток (рис. 2). Последнее, безусловно, усиливало прямое гипогликемизирующее действие бета-клеток, находившихся в составе пересаженных культур ОК.

***Изучение влияния внеклеточных компонентов культур островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов на рост и дифференцировку культур стволовых клеток человека***

На 1-м этапе исследований, описанных в настоящем отчете, было установлено, что совместное культивирование ЭРК и ОК приводит к формированию жизнеспособной культуры ОК на фоне прогрессирующей деградации культуры ЭРК. Для исключения непосредственного негативного влияния ОК на ЭРК во флакон с культивируемыми ЭРК добавляли не ОК, а только кондиционированную среду, взятую из культур ОК. Это приводило к дифференцировке части типичных фибробластоподобных ЭРК в эпителиоподобные клетки (рис. 3), которые, однако, при достаточно длительном культивировании не давали положительной реакции при специфическом иммуногистохимическом окрашивании на островковые альфа- и бета-клетки.



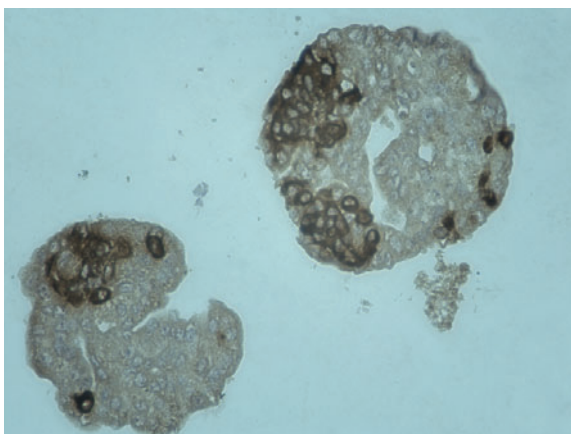
***Рис. 3. Образование очага эпителиоподобных клеток (в центре) в однослойной культуре эндометриальных регенеративных клеток человека под влиянием кондиционированной среды от культур островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов. ×200***

***Изучение влияния биополимерного матрикса Сферо®ГЕЛЬ на культуры островковых клеток поджелудочной железы***

В связи с тем что совместное культивирование ОК и ЭРК приводит к деградации последних, было решено изучить влияние биополимер-

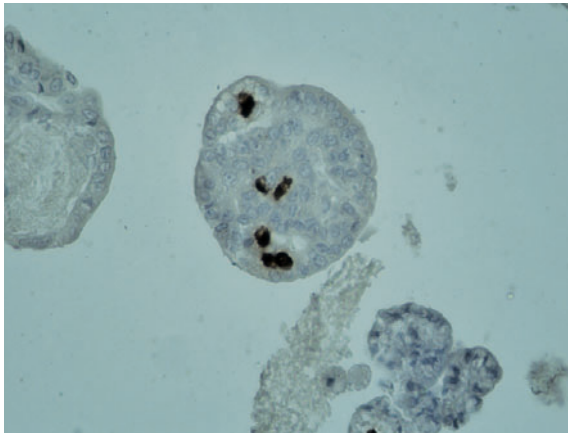
ного матрикса *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ на рост и дифференцировку клеток *in vitro* только в опытах с культурами ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов, причем использовали полученные нами флотирующие культуры, в которых сосредоточена основная масса островковой ткани.

К 12-дневному сроку инкубации микрофрагментов поджелудочной железы новорожденных кроликов происходило формирование культуры, которая состояла в основном из флотирующей фракции. Последняя представляла собой плотные островковоподобные структуры, в которых методом иммуногистохимии определялись гормонсодержащие ОК, а именно бета-клетки и альфа-клетки (рис. 4, 5). При совместной достаточно длительной (2 недели) инкубации культур ОК и биоматрикса во флотирующих микрофрагментах не выявлялось выраженных деструктивных изменений и с помощью иммуногистохимического окрашивания подтверждалось сохранение значительного количества гормонально-активных ОК как на 7-е, так и на 14-е сутки сокультивирования. Это свидетельствовало, по меньшей мере, об отсутствии отрицательного влияния *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ на выживаемость и морфофункциональные качества культур ОК. Одновременно в процессе совместной инкубации ОК с биоматриksom часть флотирующих культур прикреплялась к его поверхности, и вокруг очагов прикрепления формировались эпителиоподобные однослойные зоны роста (рис. 6). Иммуногистохимический анализ показал, что большинство клеток, прикрепленных к *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ, демонстрировали позитивную реакцию при окрашивании антителами к цитокератину 19 – специальному маркеру протокового эпителия (рис. 7).

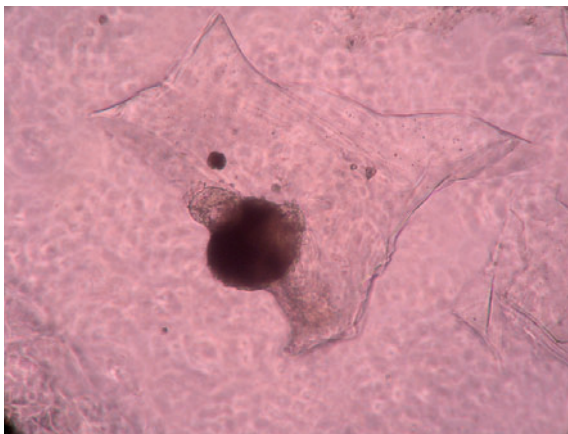


**Рис. 4.** Флотирующая культура островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов. Иммунопозитивное окрашивание бета-клеток антителами к инсулину. ×400

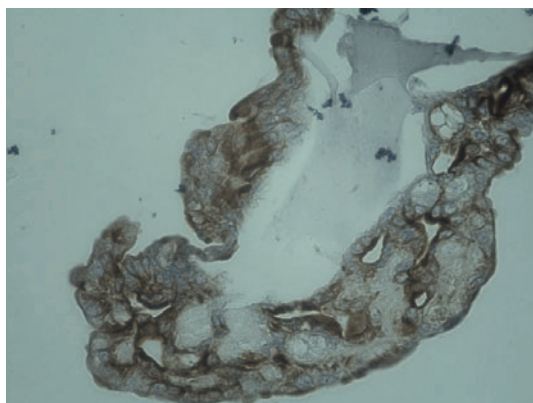
На основании ранее проведенных нами исследований [4, 5] можно с большой долей вероятности предположить, что эти клетки, происходящие из протокового эпителия, являются прогениторными клетками поджелудочной железы, то есть предшественниками ОК. Важно отметить, что в контрольном опыте инкубации флотирующих культур поджелудочной железы новорожденных кроликов (без *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ) не наблюдалось прикрепления флотирующих культур ко дну культурального флакона и образования клеточного монослоя.



**Рис. 5.** Флотирующая культура островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов. Иммунопозитивное окрашивание альфа-клеток антителами к глюкагону.  $\times 400$



**Рис. 6.** Прикрепление флотирующей культуры островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов к биоматриксу.  $\times 200$



**Рис. 7. Прикрепление культуры островковых клеток к биоматриксу. Иммунопозитивное окрашивание бета-клеток антителами к цитокератину 19.  $\times 400$**

## **ВЫВОДЫ**

1. Проведенные исследования по совместной инкубации культур островковых клеток (ОК) поджелудочной железы кроликов и культуры эндометриальных регенеративных (стволовых) клеток (ЭРК) человека в стандартных условиях позволяют сделать предположение о том, что ОК в процессе сокультивирования «использовали» ЭРК как подложку и за их счет успешно выживали и формировали жизнеспособную культуру.
2. Доказано влияние трансплантации культур ОК поджелудочной железы новорожденных кроликов на течение экспериментального сахарного диабета и на процессы регенерации в поджелудочной железе крыс-реципиентов.
3. В экспериментах *in vitro* доказано, что использование биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля в качестве биоматрикса обеспечивает благоприятные условия для сохранения морфофункциональных свойств флотирующих культур ОК поджелудочной железы.
4. Показана перспективность использования прогениторных клеток поджелудочной железы и биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля в качестве основных компонентов тканеинженерной конструкции поджелудочной железы.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Результаты опытов по совместной инкубации *in vitro* островковых клеток (ОК) поджелудочной железы новорожденных кроликов и эндометриальных регенеративных (стволовых) клеток (ЭРК) человека позволяют

сделать предположение о том, что ОК в процессе сокультивирования «использовали» ЭРК как подложку и за их счет успешно выживали и формировали жизнеспособную культуру.

Трансплантация культур ОК новорожденных кроликов крысам со стабильно тяжелым экспериментальным сахарным диабетом оказывает выраженное и длительное сахароснижающее действие и стимулирует регенерацию собственных ОК животных-реципиентов.

Появление эпителиоподобных клеток среди типичных фибробластоподобных клеток, составляющих культуру ЭРК, после добавления в нее кондиционированной среды из культуры ОК может быть обусловлено индуктивным воздействием продуктов метаболизма проинкубированных ОК.

Использование биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля в качестве биоматрикса обеспечивает благоприятные условия для сохранения морфо-функциональных свойств флолирующих культур ОК поджелудочной железы. Помимо этого часть флолирующих культур прикрепляется к поверхности биоматрикса, и вокруг очага прикрепления происходит формирование однослойной зоны роста эпителиальных клеток, которые, как показали проведенные нами ранее иммуногистохимические исследования [5, 6], имеют дуктальное происхождение и являются источником прогениторных клеток поджелудочной железы. Получение таких культур может существенно увеличить потенциал панкреатической ткани как источника островковых клеток, которые могут быть использованы для трансплантации больным сахарным диабетом. Перспективность использования прогениторных клеток поджелудочной железы подтверждена исследованиями, в которых показано, что отсутствие предшественников ОК в трансплантате приводит к снижению массы бета-клеток [7], в то время как трансплантация островковой ткани, богатой прогениторными клетками, существенно повышает антидиабетический эффект [8].

Таким образом, биополимерный гетерогенный коллагенсодержащий гидрогель может быть использован в качестве матрикса тканеинженерной конструкции поджелудочной железы.

## Список использованных источников

1. Биосовместимые материалы: учебное пособие / Под ред. В.И. Севастьянова и М.П. Кирпичникова. – М.: МИА, 2011. – 544 с.
2. Сургученко В.А., Пономарева А.С., Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., Скалецкий Н.Н., Севастьянов В.И. Формирование тканеинженерной конструкции хрящевой ткани в условиях *in vitro* // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 66–72.
3. Шагидулин М.Ю., Горкун А.А., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Можейко Н.П., Башкина Л.В., Сабурова И.Н., Севастьянов В.И., Готье С.В. Использование МСК различной онтогенетической зрелости для

- коррекции хронического фиброзирующего повреждения печени // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 73–82.
4. *Скалецкий Н.Н., Шумаков В.И.* Способ получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, для трансплантации больным сахарным диабетом с использованием феномена миграции клеток и способ лечения сахарного диабета методом его трансплантации // № 2135193 от 27.08.99.
  5. *Кирсанова Л.А., Баранова Н.В., Скалецкий Н.Н., Зайденов В.А., Бубенцова Г.Н., Пушкова И.А.* Поджелудочная железа новорожденных кроликов как источник прогениторных клеток // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2011. – № 1. – С. 61–64.
  6. *Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., Баранова Н.В., Скалецкий Н.Н., Зайденов В.А., Пушкова И.А.* Особенности формирования островковоподобных кластеров при культивировании монослоя протокового эпителия // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – № 4. – С. 74–79.
  7. *Lee S.-H., Hao E., Savinov A.Y., Geron I., Strong A.J. and Itkin-Ansari P.* Human B-cell precursors mature into functional insulin-producing cells in an immunoisolation device: implications for diabetes cell therapies // *Transplantation*. – 2009. – Vol. 87, № 7. – P. 983–991.
  8. *Smith R.N., Kent S.C., Nagle J., Selig M., Lafrate A.J., Najafian N. et al.* Pathology of an islet transplant 2 years after transplantation: evidence for an immunological loss // *Transplantation*. – 2008. – Vol. 86, № 7. – P. 54–62.

## **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР в 2013 году**

1. *Скалецкий Н.Н.* Разработка методических подходов к получению островковых клеток на основании результатов морфологического анализа поджелудочной железы кроликов различного возраста [Текст] / Н.Н. Скалецкий, Л.А. Кирсанова, Н.В. Баранова, Г.Н. Бубенцова // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 98–103.



# **РАЗРАБОТКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ПЕЧЕНИ ИЗ АССОЦИАТОВ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ И БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ НОСИТЕЛЕЙ**

**(по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Готье С.В., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.*

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

---

**Печеночная недостаточность, лечение печеночной недостаточности, печень, гепатоциты, трансплантация гепатоцитов, тканеинженерные конструкции, биodeградируемые матриксы, регенеративная медицина.**

---

**Объект исследования:** лабораторные животные (крысы) с хронической печеночной недостаточностью; печень экспериментальных животных; клетки печени, кровь лабораторных животных; биоматериалы, используемые в хирургии и трансплантологии.

**Цель работы:** разработка и проведение экспериментальных исследований по использованию тканеинженерной конструкции (ТИК) печени из функционально активных ассоциатов аутологичных клеток печени и биodeградируемого матрикса из биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля для коррекции и лечения печеночной недостаточности.

В результате исследования была разработана экспериментальная модель хронической печеночной недостаточности. Проведен анализ биохимических изменений в крови экспериментальных животных и морфологических изменений в печени при длительном выживании аутологичных клеток печени в составе ТИК (ассоциаты аутологичных клеток печени и гетерогенный матрикс – отечественный имплантат из микро- и наноструктурированных биорезорбируемых полимерных материалов, разрешенный к клиническому применению как медицинское изделие для замещения дефектов мягких тканей).

**Основные показатели:** выявлена длительная выживаемость без отторжения как пересаженных ассоциатов аутологичных клеток печени (включая и прогениторные клетки печени) в составе ТИК, так и суспензии аутологичных клеток печени (включая и прогениторные клетки печени), причем морфофункциональная активность пересаженных ассоциатов аутологичных клеток печени (включая и прогениторные клетки печени) в составе ТИК была более высокой.

## ВВЕДЕНИЕ

Совершенствование методов лечения острой и хронической печеночной недостаточности (ПН) остается актуальной задачей современной медицины, так как смертность и нетрудоспособность при заболеваниях печени занимает одно из первых мест и не имеет тенденции к снижению [1, 2]. Существует мнение, что недостаточная эффективность традиционно применяемых методов лечения ПН (медикаментозная и афферентная терапия) обусловлена тем, что афферентные методы, имитируя детоксикационную функцию печени, тормозят регенераторный восстановительный процесс в пораженной печени, механически удаляя из организма не только токсичные вещества, но и факторы, необходимые для репаративной регенерации поврежденной печени.

В последние 50 лет при глубоком необратимом повреждении печени стали проводить полную замену этого органа путем трансплантации донорской печени. Однако возрастающая во всем мире нехватка донорских органов [3, 4] заставляет искать другие, более доступные методы лечения ПН, направленные на восстановление функций собственной печени в организме. Такой подход оправдывается тем, что у большинства больных, даже погибших от ПН, печень часто не является погибшим органом, поскольку очаги некрозов в ней окружены паренхиматозными клетками с разной степенью дистрофических изменений, часть которых (до 30% гепатоцитов) вполне жизнеспособна, а потому при благоприятных условиях и адекватных регулирующих воздействиях может стать жизнедеятельной. Исключительная способность печени выполнять свои функции сниженным объемом функционирующей паренхимы, а также восстанавливать массу функционирующих гепатоцитов при ее резекции обусловили появление новых методов в лечении ПН, основанных на использовании высокой регенераторной способности этого органа.

К таким методам относятся клеточные технологии, и прежде всего трансплантация изолированных гепатоцитов. Этот метод, предложенный в 90-е годы прошлого столетия, получил клиническое признание, но продолжает изучаться и совершенствоваться в плане повышения эффективности и сроков его терапевтического эффекта [5].

Полагают, что непродолжительные сроки (2–3 месяца) корректирующего воздействия взвеси изолированных донорских гепатоцитов после их трансплантации на поврежденную печень обусловлены рядом причин: использованием аллогенного донорского материала с крайне низким содержанием активно функционирующих стволовых/прогениторных клеток печени, что не обеспечивает необходимого уровня индукции процессов восстановительной регенерации в печени больного; отсутствием в используемой взвеси аллогенных донорских клеток-структур, создающих условия для их прикрепления с образованием клеточных ассоциатов

типа печеночных долек, способных длительно функционировать; отсутствием защиты аллогенных клеток от иммунного отторжения в организме реципиента.

Для повышения эффективности и сроков применения клеток печени при лечении ПН возникает необходимость в разработке новых клеточных технологий, которые бы поддерживали интенсивную и длительную регенерацию паренхимы поврежденной печени за счет дополнительного включения в состав ассоциатов используемых клеток донорской печени – активно функционирующих стволовых/прогениторных клеток печени и образование длительно функционирующих прикрепляющихся клеточных ассоциатов (включая и прогениторные клетки печени) при взаимодействии с трехмерными адгезионными биосовместимыми и биodeградируемыми носителями (матриксами).

В качестве прогениторных клеток, активно индуцирующих регенераторный процесс в печени, могли бы быть использованы клетки Ито, так как являются неременными участниками восстановительного морфогенеза печени [6].

В качестве матриц, обеспечивающих прикрепление и длительное полноценное функционирование донорских клеток в поврежденной печени, могли бы быть использованы отечественные биополимерные материалы, и прежде всего коллагенсодержащие гидрогели [7, 8], например *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ.

Несмотря на клиническое применение, а также применение в культуральных исследованиях, биополимерные гетерогенные коллагенсодержащие гидрогели не применялись для изготовления имплантируемых клеточно-инженерных конструкций (биомодулей), депонирующих клетки печени и создающих условия для их контактного взаимодействия.

В зарубежной литературе в экспериментах на животных было описано применение интракорпоральных биомодулей «вспомогательная печень» [9], которые представляли собой биodeградируемый полимерный матрикс с адгезированными на нем гепатоцитами. Между тем выраженная местная воспалительная реакция после трансплантации предложенных биомодулей, гибель большого числа гепатоцитов и низкая плотность их прикрепления свидетельствовали об отсутствии у используемых матриц оптимальной биосовместимости, а также о неспособности их обеспечивать адекватные условия для долгосрочного выживания клеток печени. Исследований по применению отечественных биополимеров для длительного культивирования клеток печени и изготовления клеточно-инженерных конструкций типа «вспомогательная печень», а также по использованию их для коррекции и лечению ПН мы в литературе не обнаружили.

**Цель работы:** разработка и проведение экспериментальных исследований по использованию тканеинженерной конструкции (ТИК) печени

из функционально активных ассоциатов аутологичных клеток печени и биодеградируемого матрикса из биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля для коррекции и лечения печеночной недостаточности.

В 2013 году были решены следующие задачи исследования.

1. Разработан протокол иммуносупрессии для экспериментальных животных (крысы).
2. Исследованы биохимические и морфологические изменения в печени экспериментальных животных после трансплантации в паренхиму печени клеточно-инженерной конструкции аллогенных клеток печени (требующие применения иммуносупрессивной терапии) на модели хронической печеночной недостаточности.
3. Доказано длительное выживание аллогенных клеток печени в составе клеточно-инженерной конструкции.

В 2013 году исследование было проведено при использовании принципиально иного клеточного материала – аутологичных клеток печени и аутологичных прогениторных клеток печени (весь клеточный материал получен от экспериментальных животных – крыс одной линии, однояйцевых близнецов). Следует особо подчеркнуть, что применение аутологичного клеточного материала не требует применения иммуносупрессивной терапии.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать биохимические изменения в крови и морфологические изменения в печени экспериментальных животных после трансплантации в паренхиму печени суспензии аутологичных клеток печени (включая прогениторные клетки печени) на модели хронической печеночной недостаточности.
2. Исследовать биохимические изменения в крови и морфологические изменения в печени экспериментальных животных после трансплантации в паренхиму печени клеточно-инженерной конструкции с ассоциатами аутологичных клеток печени (включая прогениторные клетки печени) на модели хронической печеночной недостаточности.
3. Доказать длительное выживание пересаженных аутологичных клеток печени как в виде суспензии, так и в виде клеточно-инженерной конструкции.
4. Провести сравнительный морфофункциональный анализ полученных результатов по коррекции и лечению хронической печеночной недостаточности при использовании как суспензии клеток печени (включая прогениторные клетки печени), так и клеточно-инженерной конструкции с ассоциатами аутологичных клеток печени (включая прогениторные клетки печени).

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Для направления, организации, поддержания роста, пролиферации и дифференцировки клеток в процессе формирования функционирующей ткани в биоискусственных (тканеинженерных) системах используют матриксы (имплантируемые носители, каркасы) [7]. Матриксы способствуют локализации имплантированных клеток в области дефекта и являются носителем (подложкой) для субстрат-зависимых клеток, действуя как аналог естественного внеклеточного матрикса (ВКМ), а также управляют процессом развития ткани. В некоторых случаях матрикс имплантируют без клеток. Таким образом, регенерация достигается посредством тканевой индукции – процесса прорастания ткани сквозь материал матрикса.

Матриксы для биоискусственных органов должны обладать следующими характерными свойствами [7, 8]:

- многофункциональностью (выполнять одновременно функции каркаса, подложки и питательной среды для клеточных культур);
- механической прочностью и эластичностью, достаточной для хирургических манипуляций;
- биосовместимостью на белковом и клеточном уровне;
- способностью стимулировать пролиферацию и дифференциацию клеток;
- пористой структурой, обеспечивающей процессы неоваскуляризации;
- возможностью стерилизации стандартными способами без изменения их медико-технических свойств.

Для биodeградируемых матриксов важным свойством является регулируемое время биodeградации. Матрикс должен деградировать на биологически безопасные соединения со скоростью роста новой функционирующей ткани и полностью замещаться тканью того или иного органа.

Несмотря на многочисленные исследования, разработка биodeградируемых трехмерных носителей (матриксов) с заданными медико-техническими свойствами для восстановления поврежденной печени продолжает оставаться актуальной проблемой.

Известно применение донорских гепатоцитов либо путем трансплантации их в подкожную клетчатку, селезенку, брюшную полость и паренхиму печени, либо путем временного подключения биореакторов (культиваторов) с микрофрагментами ткани печени или изолированными гепатоцитами в экстракорпоральных контурах перфузионных систем типа «биоискусственная печень» [5, 10, 11]. Указанные способы клеточной терапии ПН имеют существенные недостатки, главными из которых являются короткие сроки выживания донорских изолированных гепатоцитов (до 4–5 часов).

В экспериментах на животных описано применение интракорпоральных биомодулей «вспомогательная печень» [9], которые представляют со-

бой биодеградируемый полимерный матрикс с адгезированными на нем гепатоцитами. Однако выраженная местная воспалительная реакция после трансплантации предложенных биомодулей, гибель большого числа гепатоцитов и низкая плотность прикрепления клеток печени на них свидетельствовали об отсутствии у используемых матриксов оптимальной биосовместимости, и следовательно, о неспособности их обеспечивать адекватные условия для долгосрочного выживания клеток печени. Исследований по применению отечественных биополимеров для изготовления биомодулей типа «вспомогательная печень» и по использованию их для коррекции ПН мы в литературе не обнаружили.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве потенциального матрикса при создании КИК печени был использован биополимерный гетерогенный коллагенсодержащий гидрогель (БГКГ), специально разработанный для клеточных технологий на основе композиции имплантируемого гетерогенного геля линейного ряда *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ (№ ФСР 2012/13033 от 01.02.2012 г., ЗАО «БИОМИР сервис», Россия).

БГКГ представляет собой находящийся в шприце стерильный прозрачный, слегка опалесцирующий, вязкий, рН-сбалансированный гидрогель с зернистой структурой. Средний размер микрочастиц –  $150 \pm 20$  мкм, вязкость МКГМ –  $62,9 \pm 7,9$  Па и рН =  $6,8 \pm 0,1$ .

Для обоснования целесообразности трансплантации в печень клеточно-инженерных конструкций или суспензии клеток печени при лечении хронической ПН были выполнены опыты на крысах-самцах породы Вистар весом 250–260 г с моделью хронического токсического фиброзирующего повреждения П (n = 60).

После создания модели ПН все животные были разделены на 3 группы в зависимости от способа коррекции ПН. В I группе, контрольной (n = 10), крысам на 7-е сутки после создания модели ПН вводили в печень физиологический раствор в количестве 650 мкл. Во II группе (n = 20) на 7-е сутки после моделирования ПН крысам вводили суспензию клеток печени, дробно в дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток, в том же объеме физиологического раствора в поврежденную печень. В III группе (n = 30) на 7-е сутки после моделирования ПН крысам вводили ТИК (суспензия клеток печени, дробно в дозе  $8-10 \times 10^6$  клеток, в том же объеме матрикса *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ в поврежденную печень).

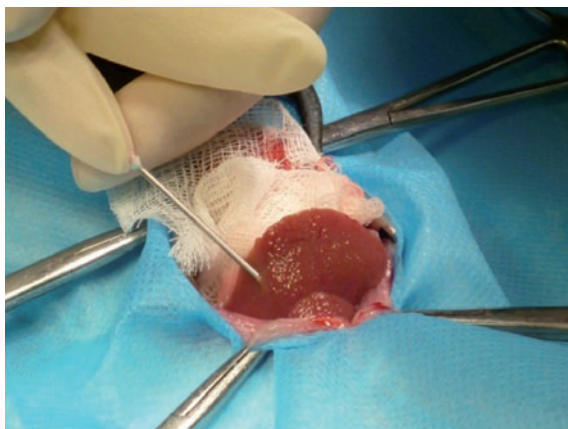
Моделирование хронического повреждения печени с переходом в цирроз проводили у крыс путем курсового введения  $CCl_4$  на персиковом масле по модифицированной нами схеме в течение 6 недель [12].

Приготовление первичной культуры клеток печени осуществляли из неперфузированной печени крыс бесперфузионным методом [13, 14].

Приготовленные клетки печени использовали для коррекции ПН во II и III группах опытов. Для приготовления аутологичных ассоциатов клеток печени в качестве доноров использовали крыс-самцов одного помета с реципиентами клеточного материала (однойцовых близнецов) линии Вистар ( $n = 40$ ). Следует подчеркнуть, что, согласно результатам обсуждения на I Национальном Конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2013 г.), принято решение считать биологический материал, полученный от экспериментальных животных одной линии, аутологичным. Крыс оперировали при анестезии Zoletil-100 из расчета 5 мг на 100 г веса.

Выход клеток колебался в пределах  $3-4 \times 10^8$  клеток. Клеточная суспензия содержала: гепатоциты, прогениторные клетки печени и непаренхиматозные клетки, которые определяли при световой микроскопии. Разделение паренхиматозных и непаренхиматозных клеток не выполняли.

Свежевыделенные клетки печени культивировали в ростовой среде в течение 3 суток, после чего клетки печени в концентрации  $2-4,0 \times 10^6$  клеток смешивали с гетерогенным биосовместимым биodeградируемым матриксом *Сферо*<sup>®</sup>ГЕЛЬ и вводили в поврежденную печень (рис. 1).



**Рис. 1. Введение ассоциатов клеток печени в поврежденную печень крысы**

Эффективность коррекции клинических и морфологических изменений в печени после моделирования ПН и трансплантации в поврежденную печень клеток донорской печени в виде клеточной суспензии или в составе клеточно-инженерных конструкций оценивали через 30, 60, 90 суток.

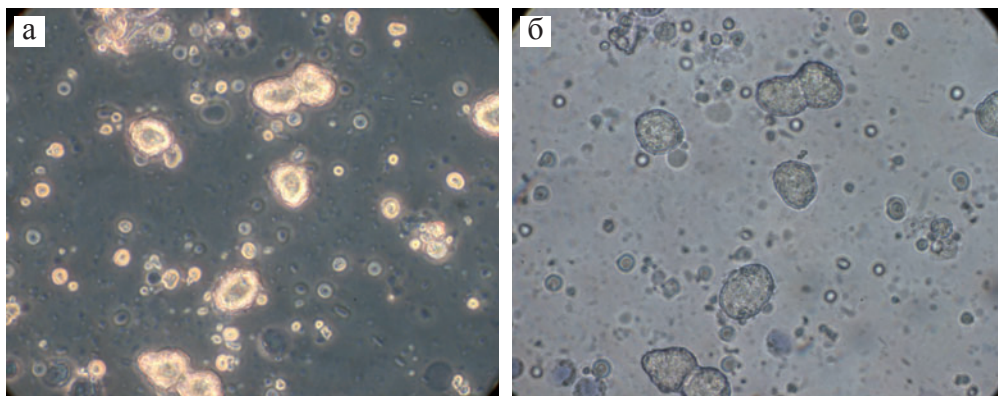
У крыс содержание АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы в крови проводили на тест-полосках Reflotron<sup>™</sup>, на биохимическом анализаторе Reflotron<sup>™</sup> («Roche», Швейцария).

Гистологические исследования (ткани печени и донорских клеток печени в виде суспензии или клеточно-инженерных конструкций) проводили путем окрашивания срезов гематоксилином и эозином, а также по Маллори на соединительную ткань. Проводили световую и фазово-контрастную микроскопию клеток в культуре, а также микроскопию клеток по Номарскому, позволяющую получить псевдотрехмерное изображение.

Различия в результатах биохимического исследования крови в исследуемых группах оценивали по критерию t-Стьюдента с учетом поправки Бонферони.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Методами световой микроскопии было установлено, что клеточная суспензия, приготовленная из донорской печени, содержала ~95–98% гепатоцитов и ~5–2% непаренхиматозных клеток (рис. 2), причем жизнеспособность этих клеток составляла  $76 \pm 4\%$ . Разделение клеток на паренхиматозные и непаренхиматозные не производили.



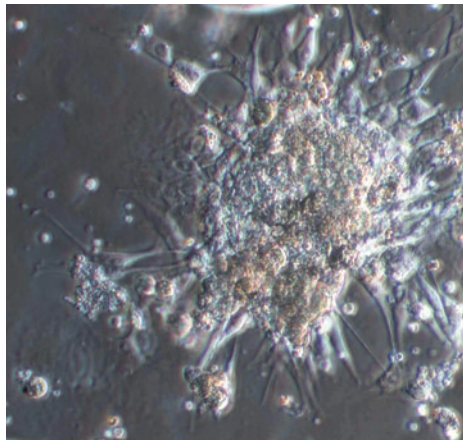
**Рис. 2.** Суспензия свежевыделенных клеток печени (гепатоциты и непаренхиматозные клетки). Фазово-контрастная (а) и световая микроскопия (б).  $\times 630$

На 3-и сутки культивирования выявляли жизнеспособные ассоциаты клеток печени (рис. 3).

После окончания моделирования хронического токсического фиброзирующего повреждения печени с переходом в цирроз в организме экспериментальных животных развивались клинические признаки ПН и тяжелые гистологические нарушения в печени. На 3-и сутки после окончания затравки на фоне изменения балочной структуры печеночных долек отмечается выраженный полиморфизм паренхиматозных клеток, жировая дистрофия гепатоцитов, некроз гепатоцитов (рис. 4, а). Уже на ранних



сроках (на 7-е сутки) выявляется типичная картина цирротической трансформации печени (рис. 4, б) с прогрессирующим нарушением ее архитектоники к 60-м и 90-м суткам за счет разрастания соединительной ткани и формирования внутريدолькового фиброза (рис. 4, в, г). В ряде наблюдений в сроках до 1 месяца отличить структуру истинных и ложных долек не представлялось возможным вследствие массивной жировой дистрофии гепатоцитов.

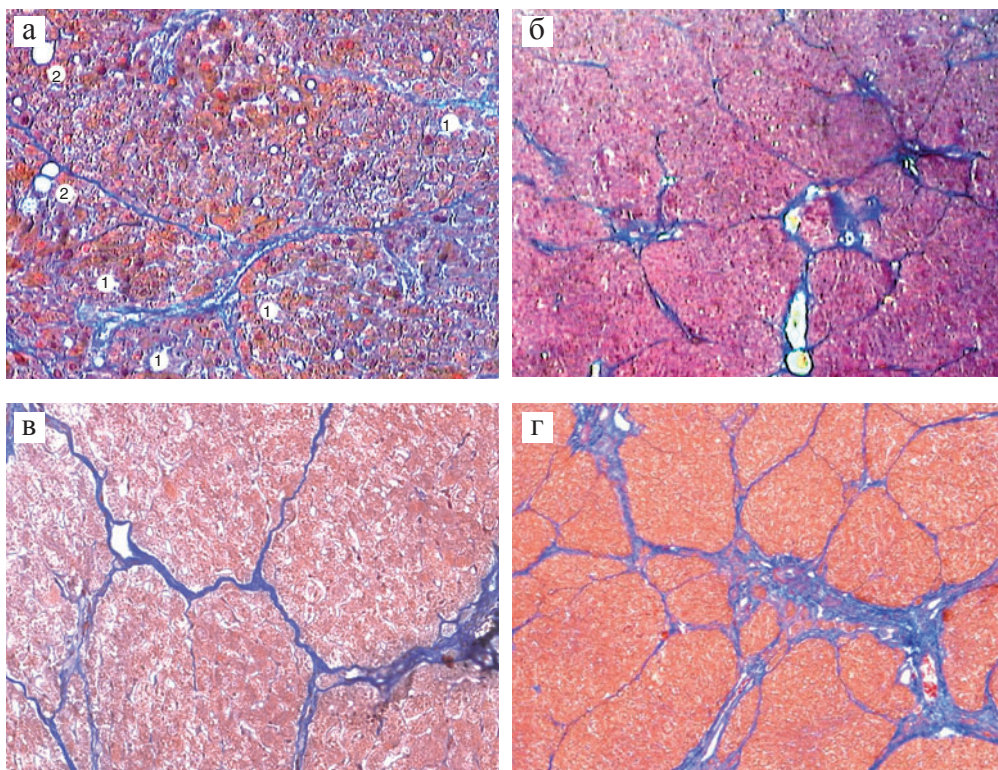


**Рис. 3. Третьи сутки культивирования клеток печени.  
Образование ассоциата печеночных клеток.  
Микроскопия по Номарскому.  $\times 200$**

Фиброзные изменения в печени в контрольной (1-й) группе животных сопровождались цитолитическими процессами в паренхиматозных клетках, что нашло отражение в нарушении биохимических показателей сыворотки крови, которые проявлялись повышением активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы (рис. 5).

При исследовании АлАТ, АсАТ и щелочной фосфатазы было установлено резкое повышение этих показателей в течение 1–2 недель, но особенно в течение 1 недели после затравки: активность АсАТ повышалась более чем в 4,5 раза, АлАТ – более чем в 3 раза, а щелочной фосфатазы – почти в 5 раз. К концу первого месяца исследуемые показатели снижались, но оставались на достоверно более высоком уровне по сравнению с интактными животными в течение 90 суток. В ткани печени контрольных животных (1-я группа) к этому сроку уже развились явления фиброза и цирроза, которые к 60-м, а особенно к 90-м суткам существенно прогрессировали (рис. 4, в, г).

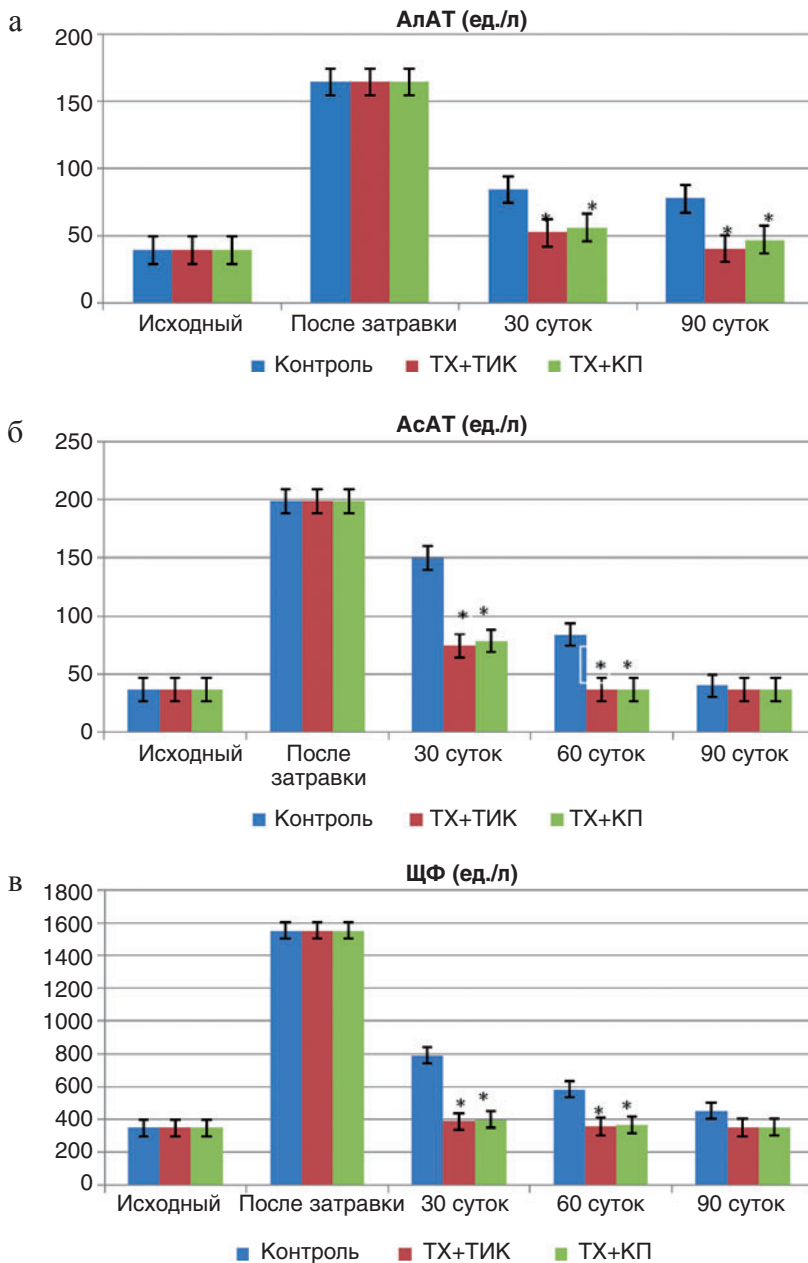
Лечение экспериментальной хронической ПН методом трансплантации суспензии клеток донорской печени (2-я группа опытов) и клеточно-инженерных конструкций, содержащих ассоциаты клеток печени на



**Рис. 4. Гистологическая картина ткани печени на разных сроках после завершения моделирования хронического токсического фиброзирующего повреждения печени (затравка крыс  $CCl_4$  в течение 42 суток). Окраска на соединительную ткань по Маллори: а – через 3 суток; 1 – ложные дольки; 2 – крупные капли жира;  $\times 100$ ; б – через 7 суток; 1 – соединительно-тканная септа; 2 – коллагеновые волокна; 3 – двуядерные Г.  $\times 250$ ; в – через 60 суток; ложные дольки.  $\times 250$ ; г – через 90 суток; ложные дольки.  $\times 250$**

БГКГ-матриксах (3-я группа опытов), также сопровождалось цитолитическими процессами в паренхиматозных клетках печени крыс-реципиентов, которые проявлялись гипертрансфераземией и повышением щелочной фосфатазы сыворотки крови. Однако во 2-й и 3-й группах с применением клеточной терапии эти показатели были достоверно ниже, чем в контроле (1-я группа опытов) (рис. 5), и достигали нормальных значений раньше, чем в контроле.

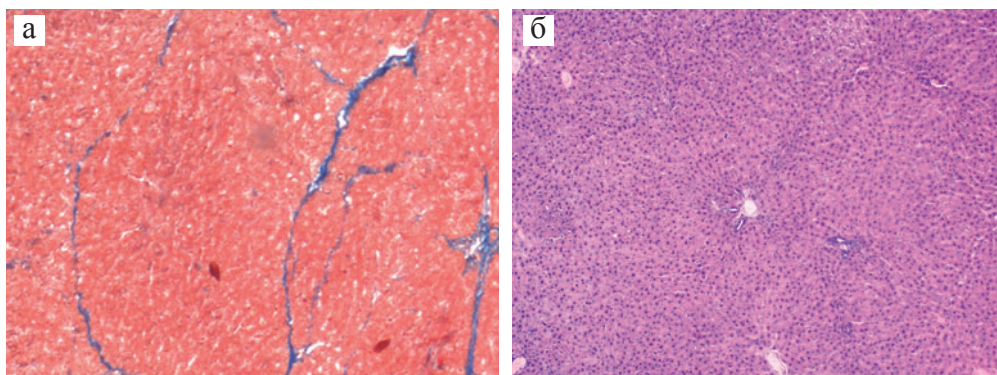
Следует отметить, что достоверных различий в темпе нормализации ферментов цитолиза во 2-й и 3-й группах опытов нами отмечено не было.



**Рис. 5. Динамика восстановления уровня аминотрансфераз: а – АлАТ (N до 40 ед.); б – АсАТ (N до 60 ед.) и в – ЩФ (N до 350 ед.) в крови у крыс после моделирования ПН: без применения клеточной терапии (контроль) и на фоне трансплантации в печени клеточно-инженерных конструкций и свежесыведенных Г**

\* – Различие достоверно по сравнению с контролем,  $p < 0,05$ .

Однако во 2-й группе опытов темп дефибрирования ткани поврежденной печени к 90-м суткам наблюдения при трансплантации суспензии клеток печени был ниже, чем в 3-й группе опытов с трансплантацией клеточно-инженерных конструкций, так как в структуре печеночной ткани встречались островки соединительной ткани, тогда как в 3-й группе опытов имело место полное восстановление структуры ткани печени (рис. 6).



**Рис. 6.** Гистологическая картина ткани печени через 90 суток после моделирования ПН и трансплантации донорских клеток печени и ТИК: а – после трансплантации суспензии клеток печени; окрашивание по Малори.  $\times 200$ ; б – после трансплантации клеточно-инженерных конструкций (клетки печени в Сферо<sup>®</sup>ГЕЛе); окрашивание гематоксилином и эозином.  $\times 100$

Кроме того, в 3-й группе опытов на 90-е сутки в печени реципиента была отчетливо выражена пролиферативная и гликоген-аккумулирующая активность в пересаженных клетках печени, которая во 2-й группе опытов была достоверно ниже, хотя жизнеспособные клетки донорской печени при окраске на цитокератин очагово выявлялись.

Если учесть, что во 2-й и 3-й группах опытов для клеточной терапии было применено одинаковое количество клеток, то следует признать, что обнаруженные различия во 2-й и 3-й группах, очевидно, связаны с более низкой выживаемостью и сниженной регуляторной активностью неприкрепленных и неинтегрированных тканью печени трансплантированных клеток печени во 2-й группе. В 3-й группе клетки донорской печени и трансплантированные в виде ассоциатов в составе биоактивного БГКГ не только сохраняли свою жизнеспособность и функциональную активность в составе трансплантированных клеточно-инженерных конструкций, но и интегрировались в структуру печеночной ткани реципиента. Проведенное нами гистологическое исследование состояния клеточно-инженерных конструкций на 90-е сутки указывает на их интеграцию в структуру печеночной ткани.

Более выраженная и пролонгированная жизнеспособность клеток печени после трансплантации в составе клеточно-инженерных конструкций позволяет прийти к заключению, что использование клеточно-инженерных конструкций (биомодулей) для лечения хронической ПН является более предпочтительным, чем использование суспензии клеток печени. Это объясняется тем, что для перепрограммирования хронически нарушенного процесса восстановительной регенерации в печени необходимо длительное (а точнее постоянное) поступление в тканевые регенерационные ниши поврежденной печени комплекса роста-стимулирующих факторов и регуляторных тканеспецифических цитокинов, индуцирующих и поддерживающих восстановительный процесс в поврежденной печени. Пролонгированная активация восстановительных процессов в печени у больных с ПН является надежным фактором перепрограммирования регенераторных процессов (с фиброзирующего типа регенерации на дефиброзирующий тип) и восстановления нарушенных функций печени, что должно увеличить сроки и качество жизни больных, в том числе больных, включенных в лист ожидания на трансплантацию печени.

## **ВЫВОДЫ**

1. Пересаженные ассоциаты клеток печени (включая прогениторные клетки печени) как в виде суспензии, так и в виде клеточно-инженерной конструкции длительно выживают.
2. Функциональная эффективность (снижение цитолитического синдрома) при трансплантации клеточно-инженерной конструкции печени, разработанной на основе ассоциатов аутологичных клеток печени (включая прогениторные клетки печени) и биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля, более высокая по сравнению с опытной группой, где в качестве клеточной терапии были применены клетки печени в виде суспензии.
3. При трансплантации клеточно-инженерной конструкции печени в паренхиму поврежденной печени экспериментальных животных темп дефиброзирования более высокий по сравнению с опытной группой, где в качестве клеточной терапии были применены клетки печени в виде суспензии.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В опытах на крысах с моделью хронического фиброзирующего повреждения печени показано, что трансплантация клеток донорской печени (включая прогениторные клетки печени), приготовленных как в виде суспензии, так и в виде клеточно-инженерных конструкций (биомодулей),

способствует ускоренной нормализации морфофункциональных показателей функции печени по сравнению с контролем (опыты без применения клеток донорской печени). Однако темп дефибрирования ткани поврежденной печени реципиента при использовании одинакового количества клеток печени в суспензии и клеточно-инженерных конструкциях (биомодулях) был более выражен и ускорен в опытах с использованием клеточно-инженерных конструкций, что обусловлено созданием в этих конструкциях (биомодулях) биологически адекватных условий для пролонгированной жизнедеятельности клеток, включенных в их структуру – клеток печени.

## Список использованных источников

1. *Чикотеев С.П., Плеханов А.Н.* Очерки хирургии печени и поджелудочной железы // Иркутск, 2002. – 259 с.
2. Дифференциальная диагностика и лечение внутренних болезней: Руководство для врачей. Т. 2. Болезни органов пищеварения / Под ред. А.И. Хазанова. – М., 2003. – С. 281–306.
3. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г.* Тенденции развития органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2008 гг. Сообщение I (по данным регистра Российского трансплантологического общества). // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2009. – Т. XI, № 3. – С. 8–16.
4. *Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульников О.М.* Трансплантация печени. – М.: МИА, 2008. – 246 с.
5. *Pietrosi G., Vizzini G.B., Gruttadauria S., Gridelli B.* Clinical applications of hepatocyte transplantation // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 7. – P. 2074.
6. *Онищенко Н.А., Люндуп А.В., Шагидулин М.Ю., Крашенинников М.Е.* Синусоидальные клетки печени и клетки костного мозга как компоненты единой функциональной системы регуляции восстановительного морфогенеза в здоровой и поврежденной печени // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. VI, № 2. – С. 73–87.
7. *Севастьянов В.И., Куртичников М.П.* Биосовместимые материалы: Учебное пособие. – М.: МИА, 2011. – 544 с.
8. *Шумаков В.И., Севастьянов В.И.* Биополимерные матриксы для искусственных органов и тканей // Здоровоохранение и медицинская техника. – 2003. – № 4. – С. 30–33.
9. *Uyama S., Kaufman P., Kneser U., Vacanti J., Rodrigues X.* Hepatocyte transplantation using biodegradable matrixes in ascorbic acid-deficient rats: comparison with heterotopically transplanted liver grafts // Transplantation. – 2001. – Vol. 7. – P. 1–7.
10. *Ohashi K., Park F., Kay M.A.* Hepatocyte transplantation: clinical and experimental application // J. Mol. Med. – 2001. – Vol. 79. – P. 617–630.
11. *Van de Kerkhove M.P., Hoekstra R., Chamuleau R.A., van Gulik T.M.* Clinical application of bioartificial liver support systems // Ann. Surg. – 2004. – Vol. 240. – P. 216–230.

12. *Онищенко Н.А., Люндуп А.В., Газизов И.М., Деев Р.В., Шагидулин М.Ю., Крашенинников М.Е.* Двухфазная динамика воздействия мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток (ММСК) костного мозга на печень при моделировании фиброзирующего гепатита // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII, № 3. – С. 51–58.
13. *Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Можейко Н.П., Шмерко Н.П., Севастьянов В.И., Готье С.В.* Выживание клеток печени, иммобилизованных на 3D-матриксах при моделировании печеночной недостаточности // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII, № 3. – С. 59–66.
14. *Charles R., Lu L., Qian S., Fung J.* Stromal cell-based immunotherapy in transplantation // Immunotherapy. – 2011. – Vol. 3. – P. 1471–1485.

### **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР**

1. *Shagidulin M., Onishchenko N., Krashennnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Shmerko N., Andriyanova A., Bashkina L., Nicol'skaya A., Petrakow K., Volkova E., Avramov P., Nemetc E., Sevastjanov V. and Gautier S.* Treatment of acute liver failure using cells transplantation // 9th Swiss experimental surgery symposium (SESS). – 2013. – Fribourg. P. 7.
2. *Готье С.В., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Можейко Н.П., Люндуп А.В., Волкова Е.А., Петраков К.И., Аврамов П.В., Перова Н.В., Севастьянов В.И.* Коррекция хронической печеночной недостаточности при трансплантации клеток печени в виде суспензии и клеточно-инженерных конструкций (экспериментальное исследование) // Вестник РАМН. – 2013. – № 4. – С. 44–51.
3. *Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Люндуп А.В., Можейко Н.П., Севастьянов В.И., Готье С.В.* Трансплантация клеточно-инженерных конструкций в печень обеспечивает длительную поддержку процессов восстановительной регенерации в поврежденной печени // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 64–74.
4. *Shagidulin M., Onishchenko N., Krashennnikov M., Iljinsky I., Nemetc E., Perova N., Sevastjanov V., Gautier S.* Treatment of Acute Liver Failure by Transplantation of Liver Cells and Multipotent Mesenchymal Stromal Cells // J. European Surgical Research. – 2013. – Vol. 50 (suppl 1). – P. 21.
5. *Shagidulin M., Onishchenko N., Krashennnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lundup A., Bashkina L., Nicol'skaya A., Volkova E., Petrakow K., Avramov P., Perova N., Sevastjanov V. and Gautier S.* Treatment of chronic liver failure by using stem cells transplantation // Abstract book: The 4th Annual «Induced Pluripotent Stem Cells Event: Production and Utility in Regenerative Medicine and Other Applications». – 2013. – London. – P. 4.
6. *Gorkun A.A., Zurina I.M., Kosheleva N.V., Shagidulin M.Y., Pulin A.A., Onishchenko N.A., Saburina I.N.* Obtaining of vascularized microtissues for cell

- transplantation // XII Conference High medical technologies in XXI century: The modern achievements in cellular technologies and nanotechnologies. – Benidorm, Spain. – 2013. – P. 36.
7. *Franquesa M., Hoogduijn M.J., Eggenhofer E., Pinxteren J., Christ B., Shagidulin M., Obermajer N., Pulin A., Remuzzi G., Dahlke M.H., the MiSOT Study Group.* Mesenchymal Stem Cells in Solid Organ Transplantation (MiSOT) Fourth Meeting: Lessons Learned from First Clinical Trials // Transplantation. – 2013. – Vol. 96 (3). – P. 234–238.
  8. *Shagidulin M., Gautier S., Gorkun A., Onishchenko N., Pulin A., Repin V., Saburina I., Zurina I.* Liver tissue regeneration after transplantation of human umbilical cord derived MSC's spheroids at modeling of chronic liver failure // The international journal of artificial organs. – 2013. – Vol. 36 (8). – P. 584.
  9. *Shagidulin M., Onishchenko N., Krashennnikov M., Bashkina L., Nicol'skaya A., Pijinsky I., Mogeiko N., Avramov P., Volkova E., Lundup A., Perova N., Sevast'yanov V., Gautier S.* Selection of tactics of damaged liver therapy by Using cell transplantation (experimental study) // Transplant International. – 2013. – Vol. 26 (Suppl. 2). – P. 185.
  10. *Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Можейко Н.П., Башкина Л.В., Никольская А.О., Сабурина И.Н., Горкун А.А., Пулин А.А., Севастьянов В.И., Готье С.В.* Использование ММСК различной онтогенетической зрелости для коррекции хронического фиброзирующего повреждения печени (экспериментальное исследование) // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 73–82.
  11. *Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.* Трансплантация стволовых клеток костного мозга как новый способ лечения печеночной недостаточности. Современное состояние проблемы // Фарматека. – 2013. – № 18. – С. 130–135.
  12. *Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Можейко Н.П., Волкова Е.Н., Аврамов П.В., Люндуп А.В., Перова Н.В., Севастьянов В.И., Готье С.В.* Сочетанная трансплантация КП и ММСК как эффективный метод коррекции и лечения хронической печеночной недостаточности // Материалы I Национального конгресса по регенеративной медицине. – 2013. Москва. – С. 269.
  13. *Севастьянов В.И., Перова Н.В., Шагидулин М.Ю., Пономарева А.С., Готье С.В.* Биоактивные гетерогенные биополимерные гидрогели в тканевой инженерии и регенеративной медицине // Материалы I Национального конгресса по регенеративной медицине. – 2013. Москва. – С. 229.



---

# **ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ**

---

# **РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ ОСЕВЫХ НАСОСОВ (по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Иткин Г.П., Волкова Е.А.*

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

---

**Импантируемый осевой насос, аппарат вспомогательного кровообращения, экспериментальные испытания импантируемого осевого насоса, тромбообразование, соответствие характеристик насоса гемодинамическим параметрам организма.**

---

**Объект исследования:** импантируемый осевой насос в составе аппарата вспомогательного кровообращения.

**Цель.** Провести отработку методики экспериментальной апробации импантируемых осевых насосов на базе 18 хронических экспериментов на телятах; использовать результаты экспериментальной апробации для доработки конструкций насоса. В 2014 году планируется разработка методики клинической апробации импантируемых осевых насосов.

**Результаты работы.** Проведен анализ 18 экспериментов импантируемого осевого насоса на телятах с отработкой методики экспериментальной апробации импантируемого осевого насоса. Отработана методика оценки тромбообразования в полостях насоса с оценкой перспективности новой модифицированной модели при длительных хронических экспериментах на телятах с учетом исключения тромбообразования в полостях насоса и соединительных магистральных; оценка степени износа подшипниковых пар; методика отмывки насоса и удаления белковых отложений. Оценка динамического изменения производительности насоса при вариациях системного артериального давления с использованием специально разработанного многофункционального комплекса мониторинговых исследований PUMPAХ послужила основанием для разработки методики управления насосом. Оценка гематологического, биохимического и антиоксидантного статуса, включающая анализ динамики гематокрита, гемоглобина, общего билирубина, креатинина, антиоксидантного потенциала

и воспаления, позволяет контролировать динамику состояния гомеостаза в условиях длительных экспериментов.

**Область применения:** кардиохирургия, вспомогательное кровообращение, трансплантация сердца.

## ВВЕДЕНИЕ

В России, как и в других странах, в последние десятилетия значительно увеличивается число больных, страдающих тяжелыми формами сердечной недостаточности (ТСН) различного генеза. Необходимо отметить существенный рост числа больных среди наиболее активных слоев населения и «омоложение» возрастной группы пациентов: нередко сердечной недостаточностью страдают пациенты 30–45 лет. Все вышеуказанное связано с дополнительными нагрузками на экономику страны. В США, например, на лечение больных с ТСН тратится ежегодно 39,2 млрд долл., из них 21 млрд долл. – на госпитальное лечение [1].

Радикальными методами лечения наиболее тяжелых форм ТСН, развившейся вследствие дилатационной и ишемической кардиомиопатии, являются пересадка сердца или замена сердца механическим насосом. К настоящему времени возможность трансплантации сердца ограничена из-за дефицита донорских органов. Поэтому создание механических устройств, позволяющих длительно частично или полностью заменить функцию пораженного миокарда, по сути, позволяет реально продлить жизнь больным с ТСН [2]. Применение таких систем позволяет больным вернуться к относительно нормальной жизнедеятельности в период ожидания донорского органа; в ряде случаев появляется возможность восстановить нормальную работу собственного сердца с последующим отключением механического насоса. Не менее перспективным является использование устройств для длительной механической поддержки кровообращения (МПК) на постоянной основе больным, которым по ряду причин отказано в пересадке сердца (distination therapy). В США и Европе среди всех пациентов с использованием средств длительной МПК общая доля таких пациентов составляет более 50% [3]. Исследования, проведенные на большой группе пациентов с применением МПК в США с 2006-го по 2012 г. [4], показали, что в период 2006–2008 гг. для длительной имплантации применяли системы вспомогательного кровообращения (ВК) на базе насосов пульсирующего потока (НПП). Однако начиная с 2009 г. в 90–95% случаев стали использовать насосы неппульсирующего потока (ННП). Это связано со значительными преимуществами таких насосов по сравнению с НПП, и прежде всего с более высокой надежностью и большим ресурсом работы (в насосах только одна движущаяся деталь). Кроме того, ННП имеют меньший вес и габариты (что позволяет имплантировать их в грудную полость даже пациентам с небольшой по-

верхностью тела), для них характерно относительно низкое потребление энергии. К сожалению, применение импортных средств для длительного ВК в России ограничено в связи с их высокой стоимостью (от 200 до 300 тыс. долл. США). С 2009 г. в России начата программа создания первого отечественного аппарата для длительного ВК на базе имплантируемого осевого насоса (ИОН) с участием ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова». В результате такой аппарат был разработан (Патент № 2430748 РФ от 10.10.2011), и одним из основных этапов разработки в 2012–2013 гг. было проведение исследований в длительных хронических экспериментах на биологическом объекте (телятах).

Разработка методики экспериментальной и клинической апробации имплантируемого осевого насоса и послужила предметом настоящей работы, запланированной на 2012–2013 гг.

На первом этапе работы в 2012 году:

- 1) определены основные этапы предоперационной подготовки животного, выбраны и апробированы методика анестезиологической подготовки животного и оптимальная техника имплантации осевого насоса без использования искусственного кровообращения;
- 2) подготовлен операционный комплекс, состоящий из анестезиологического и хирургического оборудования, адаптированного к условиям эксперимента на крупных животных и приспособленного для проведения операций по имплантации осевого насоса;
- 3) сформулированы требования к специализированному информационно-вычислительному комплексу для непрерывного контроля и регистрации гемодинамических параметров.

Следующий этап исследования, выполняемый в 2013 году, был посвящен разработке и апробации методик экспериментального изучения имплантируемых осевых насосов.

В 2014 г. планируется разработка методики клинической апробации аппарата.

**Цель:** разработать методику экспериментальной апробации имплантируемого насоса на всех этапах проведения эксперимента.

## **Задачи исследования**

1. Разработать методику оценки конструкции насоса и соединительных магистралей в длительных хронических экспериментах на телятах с учетом риска тромбообразования и оценки степени износа подшипниковой пары насоса.
2. Разработать методику динамической оценки диапазона изменения производительности насоса в физиологических границах системного артериального сопротивления.

3. Разработать лабораторную методику для оценки общего состояния животного.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

*Используемые средства, материально-техническое оснащение:* медицинская аппаратура – электрокардиографы, аппараты для ультразвукового исследования, хирургический инструментарий, наркозно-дыхательная аппаратура, лабораторное оборудование, мониторы центральной гемодинамики, центробежные насосы крови, имплантируемые осевые насосы, биохимический анализатор, ультразвуковые расходомеры, коагулометр, тест-система для определения активированного времени свертывания, микроскопы, источники постоянного тока; беговая дорожка для крупных животных; персональные компьютеры, программное обеспечение для обработки технических и биомедицинских параметров.

*Основные методы исследования:* осмотр, общеклинические и биохимические лабораторные исследования, электрокардиографическое мониторирование, инвазивные методы оценки центральной гемодинамики и легочного сопротивления, патоморфологические, иммуногистохимические, бактериологические, иммунологические, биохимические, молекулярно-биологические и вирусологические исследования, исследования параметров кислотно-щелочного состояния крови, анализ свертывающей системы крови; мониторинг и регистрация основных технических параметров имплантируемого насоса; исследования на гидродинамических стендах; статистическая обработка данных.

*Биологические модели:* животные (телята).

Проведен сравнительный анализ результатов 18 хронических экспериментальных исследований осевых насосов на телятах в возрасте 90–120 дней, весом  $85 \pm 5$  кг. Методика экспериментальной апробации разрабатывалась с использованием двух моделей осевого насоса:

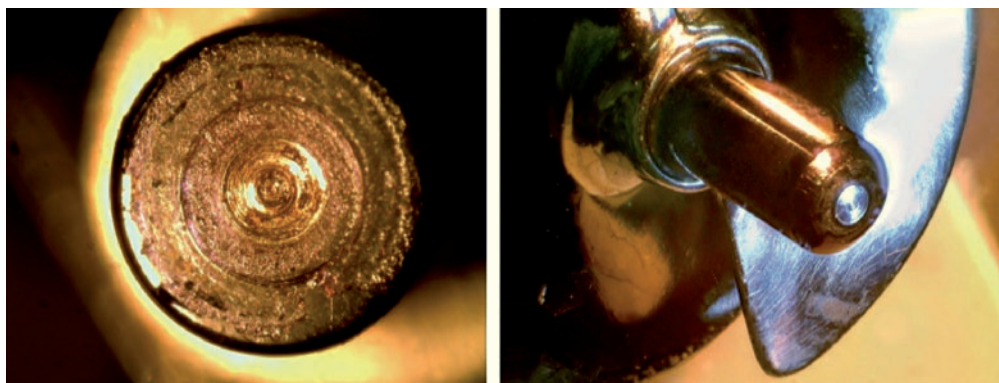
- модель 1: насос с цилиндрическими опорами и удлиненным спрямителем потока;
- модель 2: насос с шаровыми опорами и измененной конструкцией рабочего колеса и спрямителя потока.

В первой серии экспериментов ( $n = 12$ ) испытывали модель 1. Длительность экспериментов составила в среднем  $4,9 \pm 5,3$  суток, максимальная – 16 суток. Методика апробации модели насоса включала оценку тромбообразования в различных узлах аппарата и позволила выявить образование тромбов вокруг выходной опоры (рис. 1), оценить частоту их развития, размеры и сформулировать рекомендации по устранению недостатков конструкции насоса.



**Рис. 1. Тромбоз вокруг выходной опоры, перекрывающий проточное сечение на 60–70% (модель 1)**

Вариант методики экспериментальной апробации модели 1 насоса с учетом длительности экспериментов позволил оценить степень механического износа деталей конструкции и сформулировать рекомендации по минимизации риска износа цилиндрических опор (рис. 2).



**Рис. 2. Механический износ цилиндрических опор (модель 1)**

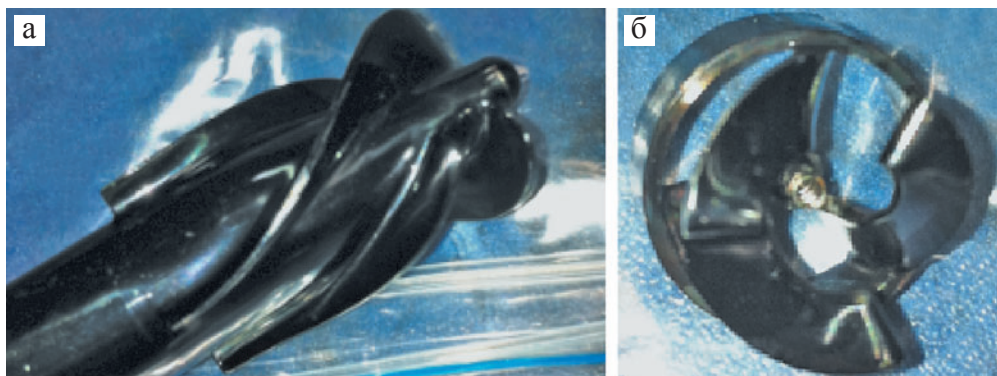
Анализ полученных результатов с использованием разработанных методик экспериментальной апробации осевого насоса послужил основанием для пересмотра конструкции насоса в части изменения рабочего колеса и спрямителя потока. На основании исследований, проведенных на доработанной компьютерной модели насоса, были внесены изменения в конструкцию насоса, позволившие изменить характер потока в насосе с точки зрения уменьшения зон стагнации и циркуляции потока. Кроме того, был доработан подшипниковый узел, при этом заменили цилиндри-

ческие опоры ротора на сферические, что позволило значительно снизить механическую нагрузку на подшипники. В результате применения разработанных методик экспериментальной апробации насоса и анализа полученных данных была сконструирована новая модель насоса – модель 2. Методики экспериментальной апробации были использованы во второй серии экспериментов на телятах ( $n = 6$ ). Длительность работы насоса составила в среднем  $74,5 \pm 29$  суток (рис. 3).



**Рис. 3. Один из длительных экспериментов с моделью 2 осевого насоса**

Результаты экспериментов позволили подтвердить эффективность доработки конструкции: в 5 экспериментах тромбоз насоса и механический износ опор отсутствовали (рис. 4).



**Рис. 4. Результат изучения осевого насоса после 60-дневного эксперимента: а – рабочее колесо, б – спрямитель потока (тромбы и износ подшипниковой пары отсутствуют)**

На основании результатов экспериментальной апробации была модифицирована входная канюля насоса с учетом особенностей анатомического строения левого желудочка сердца телят. Новая конструкция канюли позволила обеспечить минимизацию травмы межжелудочковой перегородки в процессе длительного функционирования насоса. Был модифицирован сосудистый протез в зоне анастомоза с аортой для сохранения диаметра протеза при 90° перегибе во время имплантации в грудную полость.

Анализ экспериментальных данных позволил определить основные особенности работы насоса при его длительном функционировании. При формировании методики оценки биохимического и гематологического статуса телят был определен рациональный режим исследования крови в процессе эксперимента: ежедневно на первой неделе после подключения или имплантации, затем раз в 3 дня и после 30 суток – раз в неделю. Для непрерывной длительной регистрации синхронизированных во времени параметров животного и технических параметров устройства был спроектирован и использован многофункциональный комплекс мониторинговых исследований PUMPAХ. Комплекс позволил регистрировать, записывать в память персонального компьютера и проводить последующую обработку следующих параметров: ЭКГ, артериальное и венозное давление, мгновенные и средние значения объемного расхода насоса, а также параметры, характеризующие работу насоса: электрический ток, напряжение питания, потребляемую мощность и скорость вращения рабочего колеса осевого насоса.

В процессе экспериментов отрабатывалась методика контроля достоверности информации, полученной с ультразвукового датчика расхода насоса, для индикации критических режимов насоса (режим «присасывания» в левом желудочке и режим «регургитации потока»). Для регистрации считываемой информации использован специально разработанный многофункциональный комплекс мониторинговых исследований PUMPAХ.

Еще одним неотъемлемым компонентом экспериментальной апробации насосов при их длительной имплантации является контроль основных показателей гемодинамики, биохимического и гематологического статуса, включающий оценку функционального состояния почек и печени (креатинин, общий билирубин). В процессе экспериментов проводился анализ и контроль динамики антиоксидантного потенциала и уровней С-реактивного белка на разных этапах работы насоса.

Использованная методика контроля показателей гомеостаза позволила охарактеризовать динамику острофазного ответа и установить факт стабилизации показателей оксидативного статуса и нормализации острофазного ответа спустя 7–14 дней после начала вспомогательного кровообращения. Морфологические и гистологические исследования сердца, почек, печени и легких не выявили наличия зон ишемии и тромбозов.



При исследовании на гидродинамическом стенде по оценке взаимодействия имитатора левого желудочка сердца и осевого насоса при моделировании сердечной недостаточности выбран режим, соответствующий сердечному выбросу 2–3 л/мин. В этих условиях работа осевого насоса позволяет восстанавливать общий расход до физиологических значений ( $5,05 \pm 0,8$  л/мин) и увеличивать артериальное давление на  $30 \pm 5\%$  при снижении пульсаций на  $50 \pm 10\%$ .

Отрабатывались также методики экспериментальной апробации имплантируемых осевых насосов, включающие:

- методику подготовки животных к хроническому эксперименту;
- дальнейшее уточнение требований к методике выработки анестезиологического пособия с учетом особенностей биологической модели (телята в возрасте 2,5–3,5 месяца);
- методику хирургической имплантации насоса по схеме «левый желудочек–аорта» в паракорпоральном и имплантируемом варианте без использования искусственного кровообращения;
- методику двухэтапной антитромбогенной терапии;
- сравнительный анализ различных вариантов методик оценки биохимического, гематологического и антиоксидантного статуса животного с имплантированным насосом;
- методику управления насосом с учетом физиологического изменения, системного артериального сопротивления и гемогидробаланса животного;
- методику оценки антитромбогенных характеристик насоса.

Проведен обобщенный анализ всех экспериментов, включая оценку отдельных используемых методик, который послужит основой для разработки методики клинической апробации имплантируемого осевого насоса.

## **ВЫВОДЫ**

1. Проведенный анализ 18 экспериментов имплантируемого осевого насоса на телятах позволил отработать методику оценки тромбообразования в полостях насоса с оценкой перспективности новой модифицированной модели при длительных хронических экспериментах на телятах с учетом исключения тромбообразования в полостях насоса и соединительных магистральных; методику оценки степени износа подшипниковых пар; методику отмывки насоса и удаления белковых отложений.
2. Оценка динамического изменения производительности насоса при вариациях системного артериального давления с использованием специально разработанного многофункционального комплекса мониторинговых исследований PUMPAХ послужила основанием для разработки методики управления насосом.

3. Оценка гематологического, биохимического и антиоксидантного статуса животного, включающая анализ динамики гематокрита, гемоглобина, общего билирубина, креатинина, антиоксидантного потенциала и воспаления, позволяет контролировать динамику состояния гомеостаза в условиях длительных экспериментов.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Поставленные задачи в 2013 году выполнены полностью. Результаты экспериментальных исследований имплантируемых осевых насосов с разработкой методик апробации насоса в длительных хронических экспериментах на животных могут быть использованы для разработки методики клинической апробации имплантируемого осевого насоса и рассмотрены в качестве предклинической апробации первого отечественного имплантируемого осевого насоса для обхода левого желудочка сердца.

## **Список использованных источников**

1. *Roger V.L., Go A.S., Lloyd-Jones D.M., Benjamin E.J., Berry J.D., Borden W.B., Bravata D.M., Bravata D.M., Dai S. et al.* Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association // *Circulation*. —2012. — 125 (1). — P. 188–197.
2. *Mulloy D.P., Bhamidipati C.M., Stone M.L., Ailawadi G., Kron I.K., John A., Kern J.A.* Orthotopic heart transplant versus left ventricular assist device: A national comparison of cost and survival // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2013. — Vol. 145. — P. 566–574.
3. *Bartoli C.R., Dowling R.D.* The future of adult cardiac assist device: novel systems and mechanical circulatory support strategies // *Cardiol. Clin.* 2011. — Vol. 29. — P. 559–582.
4. *Kirklin K., Naftel D., Kormos R., Stevenson L.W., Pagani F.D., Miller M.A., Baldwin J.T., Young J.B.* The Fourth INTERMACS annual Report: 4,000 implants and counting // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. — 2012. — Vol. 31 (2). — P. 117–126.

## **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР**

1. *Готье С.В., Иткин Г.П., Шемакин С.Ю., Саитгареев Р.Ш., Попцов В.Н., Захаревич В.М., Акопов Г.А., Кормер А.Я, Халилулин Т.А., Шевченко О.П., Невзоров А.М., Филатов И.А., Селищев С.В.* Первый опыт клинического применения отечественного аппарата вспомогательного кровообращения на базе имплантируемого осевого насоса для двухэтапной трансплантации сердца // *Вестн. транспл. и искусственных органов*. — 2013. — Т. XV, № 3. — P. 92–101.

2. *Иткин Г.П., Шемакин С.Ю., Шохина Е.Г., Бурцев В.И., Аврамов П.В., Волкова Е.А., Евлюхин Д.В., Шмерко Н.П., Мальгичев В.А.* Результаты экспериментальных исследований на телятах первого отечественного имплантируемого осевого насоса // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – Р. 49–58.
3. *Быков И.В., Иткин Г.П.* Принципы построения математической модели для исследования взаимодействия насосов непрерывного потока и сердечно-сосудистой системы // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – Р. 59–65.
4. *Volkova E.A., Avramov P.V., Itkin G.P., Shagidulin M.U., Shochina G., Sinyavkin D.O.* Assessing the impact of the implantable axial pump on the immune system in an experiment on calves // Int. J. Artif. Organs. – Vol. 36 (8). – 2013. – P. 573.
5. *Иткин Г.П., Шохина Е.Г., Кудинов В.Л., Бучнев А.С., Дробышев А.А., Шемакин С.Ю., Бурцев В.И., Волкова Е.А.* Анализ результатов экспериментальных исследований отечественного имплантируемого осевого насоса // Сердечно-сосудистые заболевания. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Т. 14, № 6 ноябрь–декабрь 2013. Приложение. Девятнадцатый Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, Москва 24–27 ноября 2013 г. – С. 178.
6. *Быков И.В., Иткин Г.П.* Математическая модель как средство оценки эффективности применения вспомогательного кровообращения в качестве терапии при сочетанной сердечной недостаточности // Сердечно-сосудистые заболевания. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Т. 14, № 6 ноябрь–декабрь 2013. Приложение. Девятнадцатый Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, Москва 24–27 ноября 2013 г. – С. 178.

## **РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ БИВЕНТРИКУЛЯРНОГО ОБХОДА СЕРДЦА С ПОМОЩЬЮ ОСЕВЫХ НАСОСОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**(по материалам промежуточного отчета  
о научно-исследовательской работе)**

*Иткин Г.П., Бурцев В.И.*

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

---

**Механическая поддержка кровообращения, тотальная сердечная недостаточность, искусственное сердце, сердечно-сосудистая система, бивентрикулярный обход, осевой насос, правый желудочек сердца, левый желудочек сердца.**

---

**Объект исследования:** методы бивентрикулярного обхода сердца при сердечной недостаточности с использованием осевых насосов.

**Цель работы:** дальнейшая отработка методики бивентрикулярного обхода с помощью осевых насосов в эксперименте.

**Результаты работы.** Продолжена серия экспериментов по бивентрикулярному и правожелудочковому обходу сердца. В процессе экспериментов на телятах ( $n = 8$ ) отработывалась методика правожелудочкового обхода в сочетании со стандартным левожелудочковым обходом. Установлено, что условия работы аксиального насоса в позиции правого обхода значительно отличаются от таковых слева. Выявлена необходимость модификации конструкции насоса для правожелудочкового обхода для снижения вероятности тромбообразования в полостях. Выбрана оптимальная схема экспериментальной модели бивентрикулярного обхода с имплантацией насоса для левожелудочкового обхода и экстракорпоральным подключением насоса для правожелудочкового обхода.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Сравнительный анализ выживаемости пациентов с терминальной сердечной недостаточностью с применением терапевтических методов лечения и методов и средств механической помощи сердцу показал, что в первом случае летальность пациентов значительно выше и практически не

приводит к улучшению состояния таких больных; требует длительного и затратного госпитального лечения с плохим прогнозом [1]. За последние 5 лет в мире проведено более 10 тыс. операций по имплантации систем вспомогательного кровообращения и искусственного сердца с последующим выживанием от нескольких месяцев до нескольких лет [2].

Основные цели использования указанных средств механической поддержки кровообращения [3]:

- в качестве первого этапа для последующей трансплантации сердца;
- для восстановления собственного миокарда в процессе длительного вспомогательного кровообращения;
- для постоянной имплантации, т. е. длительной замены функции сердца, обеспечивающей высокое качество жизни пациентам, которым по ряду причин отказано в пересадке сердца из-за сопутствующих заболеваний или из-за возрастных ограничений.

В большинстве случаев чрезвычайно эффективными являются аппараты, обеспечивающие левожелудочковый обход сердца (ЛЖО). Это связано с тем, что левый желудочек сердца (ЛЖ) выполняет наибольшую механическую работу в системе кровообращения и наиболее подвержен патологическим воздействиям. Именно данный метод нашел наибольшее распространение в клинической практике [4]. Результаты клинического применения устройств ЛЖО в последние годы значительно улучшились в связи с применением насосов непульсирующего потока (ННП) [5].

Однако хотя изолированная недостаточность ЛЖ сердца наиболее часто встречается у пациентов с терминальной сердечной недостаточностью, в 20–30% случаев пациенты подвержены двусторонней или тотальной сердечной недостаточности [6].

Развитие правожелудочковой недостаточности (ПЖН) в раннем постоперационном периоде после имплантации ЛЖО остается основной причиной осложнений и смертности таких пациентов [7]. Поэтому для данной достаточно большой группы пациентов разрабатываются методы и средства бивентрикулярного обхода сердца (БВО) или имплантации искусственного сердца (ИС) [8].

Наибольшее распространение получили системы экстракорпорального правожелудочкового обхода (ПЖО). Среди экстракорпоральных систем в настоящее время наиболее широко используется стационарная система CentriMag (Levitronix LLC) – центробежный насос с магнитным подвесом, – которая обеспечивает поддержку кровообращения до 30 суток [9].

Тем не менее актуальной остается проблема создания полностью автономных имплантируемых систем БВО или ИС, которые могут обеспечить более длительную поддержку кровообращения [10].

В 2012 г. выработывалась методика подключения правого и левого осевого насосов. Сформулированы требования к управлению насосами серд-

ца для выработки алгоритма регулирования скорости вращения ротора насосов при изменении гидродинамической нагрузки. Для исследования взаимодействия правого и левого насосов разработан и изготовлен двух-контурный гидродинамический имитатор сердечно-сосудистой системы.

На следующем этапе исследования в 2013 г., производилось дальнейшее исследование в эксперименте на телятах с особенным вниманием к обеспечению правожелудочкового обхода в плане адаптации режимов работы обоих насосов к потребностям гемодинамики экспериментального животного.

**Цель:** дальнейшая отработка технологии бивентрикулярного обхода с помощью осевых насосов в эксперименте с учетом особенностей гемодинамики малого круга кровообращения и подготовка материалов для заключительного этапа НИР – разработки методики бивентрикулярного обхода сердца с помощью осевых насосов в эксперименте.

### **Задачи исследования**

1. В серии экспериментальных исследований на телятах определить оптимальные условия функционирования осевого насоса при правожелудочковом обходе с точки зрения изменения гидравлической нагрузки и внутринасосной динамики потока.
2. Разработать и апробировать в эксперименте конструкцию входной канюли для забора крови из правого желудочка, а также новые узлы стыковки с насосом входной и выходной магистралей.
3. Разработать математическую модель правых отделов сердечно-сосудистой системы для моделирования двусторонней сердечной недостаточности.

### **ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

**Основные методы исследования:** проектирование параметрических трехмерных моделей; стендовые испытания макетов, включающие регистрацию их расходно-напорных характеристик; общеклинические и биохимические лабораторные исследования, эхокардиографическое исследование, инвазивные методы оценки центральной гемодинамики и легочного сопротивления, патоморфологические, иммуногистохимические, бактериологические, иммунологические, биохимические, молекулярно-биологические и вирусологические исследования, исследования параметров кислотно-щелочного состояния крови, анализ свертывающей системы крови; мониторинг и регистрация основных технических параметров имплантируемого насоса; статистическая обработка данных.

Биологические модели: животные (телята) ( $n = 8$ ) с массой тела от 88 до 91 кг.

*Используемые средства, материально-техническое оснащение:* медицинская аппаратура – электрокардиографы, аппараты для ультразвукового исследования, хирургический инструментарий, наркозно-дыхательная аппаратура, лабораторное оборудование, мониторы центральной гемодинамики и технических параметров насосов, имплантируемые осевые насосы, биохимический анализатор крови, ультразвуковые расходомеры, коагулометр, тест-система для определения активированного времени свертывания, микроскопы, источники постоянного тока; беговая дорожка для крупных животных; персональные компьютеры, программное обеспечение для обработки технических и биомедицинских параметров, программное обеспечение для математического моделирования сердечно-сосудистой системы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На данном этапе была продолжена серия экспериментальных исследований БВО и ПЖО сердца. Для исследования ПЖО выбрана схема паракорпорального подключения насоса, позволяющая производить периодическую смену разных конструкций (в частности, со спрямителем потока и без него).

В экспериментах на телятах ( $n = 3$ ) показано, что работа насоса обеспечивает заданную производительность при оптимальных скоростях вращения ротора, но связана с повышенными тромбообразованиями у задней опоры ротора насоса.

На основе ранее проведенных исследований на трехмерной математической модели осевого насоса показано, что снижение скорости вращения ротора насоса ниже 6000 об./мин приводит к образованию зон рециркуляции потока на входе насоса, которое способствует образованию тромбов. Учитывая, что гидравлическое сопротивление (ГС) в малом круге кровообращения в 5–6 раз меньше ГС большого круга кровообращения, заданный расход насоса (4–6 л/мин) при ПЖО достигался только при критических с точки зрения тромбообразования скоростях вращения насоса в диапазоне 5500–6000 об./мин.

С учетом низкого сопротивления в малом круге кровообращения введение дополнительного ГС на выходе насоса создавало условия, соответствующие режиму работы насоса при ЛЖО. В этих условиях с точки зрения минимизации тромбообразования в полостях насоса получены лучшие результаты. Тем не менее в длительных хронических экспериментах полностью исключить образование тромбов при работе насоса в режиме ПЖО не удалось. Одной из возможных причин данного факта является сниженная амплитуда пульсаций расхода на входе насоса по сравнению с амплитудой пульсаций расхода при ЛЖО. Данное предположение нашло подтверждение в исследованиях, проведенных на матема-

тической модели внутринасосной гидродинамики. Полученные данные свидетельствовали о необходимости модифицировать насос для ПЖО. Для решения данной проблемы рассмотрена также возможность модификации блока управления насосом с регулируемой периодичностью КСС вращения ротора.

При использовании насоса со спрямителем потока режим ПЖО устанавливали близким к режиму ЛЖО за счет введения дополнительного ГС на выходе насоса, соответствующего ГС артериального русла, что позволило получить оптимальную производительность насоса (4–6 л/мин) при скорости вращения ротора с 6000 до 7500 об./мин. В данных гидродинамических условиях получены лучшие результаты с точки зрения тромбообразования в полостях насоса. Однако образования тромбов, особенно в зоне задней опоры ротора, при ПЖО полностью избежать не удалось, что, возможно, связано с отличием режима пульсаций на входе насоса по сравнению с ЛЖО. Действительно, на основании информации, полученной с помощью ультразвукового датчика расхода, пульсация расхода в насосе в режиме ЛЖО составляет 3–4 л/мин, в то время как при ПЖО пульсация расхода составляет 0,5–1,5 л/мин.

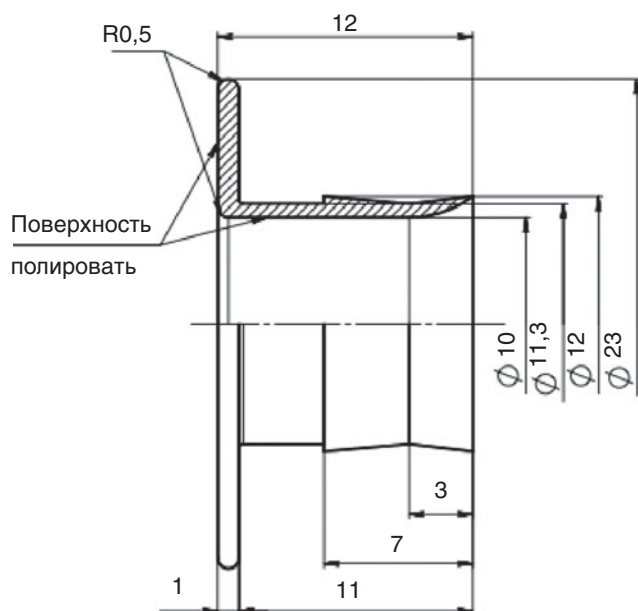
Как показали исследования, проведенные на математической модели, в режиме малых пульсаций расхода на входе насоса образуются вихревые зоны, или зоны «рециркуляции», являющиеся источником формирования тромбов, которые затем смываются и фиксируются в зоне задней опоры ротора насоса. Полученные данные свидетельствуют о необходимости модифицировать конструкцию рабочего колеса для ПЖО в области входа потока в насос.

Другим решением является доработка алгоритма управления насосом, в частности, изменение режима периодичности кратковременного снижения скорости (КСС) вращения ротора (в исходном варианте используется ежеминутная периодичность).

В отличие от предыдущей модели блока управления в модифицированном блоке управления насосами введена функция регулировки периода КСС. Оценка влияния данного режима управления будет произведена в последующих сериях экспериментов. Одновременно с учетом полученных в эксперименте результатов исследования планируется разработка новой модификации насоса для ПЖО (с уменьшенным зазором рабочего колеса и измененной конструкцией направляющего аппарата).

С учетом особенностей анатомического строения ПЖ определяли оптимальное место для канюляции правого желудочка – основание правого желудочка, на 1–2 см дистальнее полулунного клапана. Модификация геометрии входной канюли (защищена ноу-хау на конструкцию канюли, приказ директора ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России 33/17.05.2013) (рис. 1).



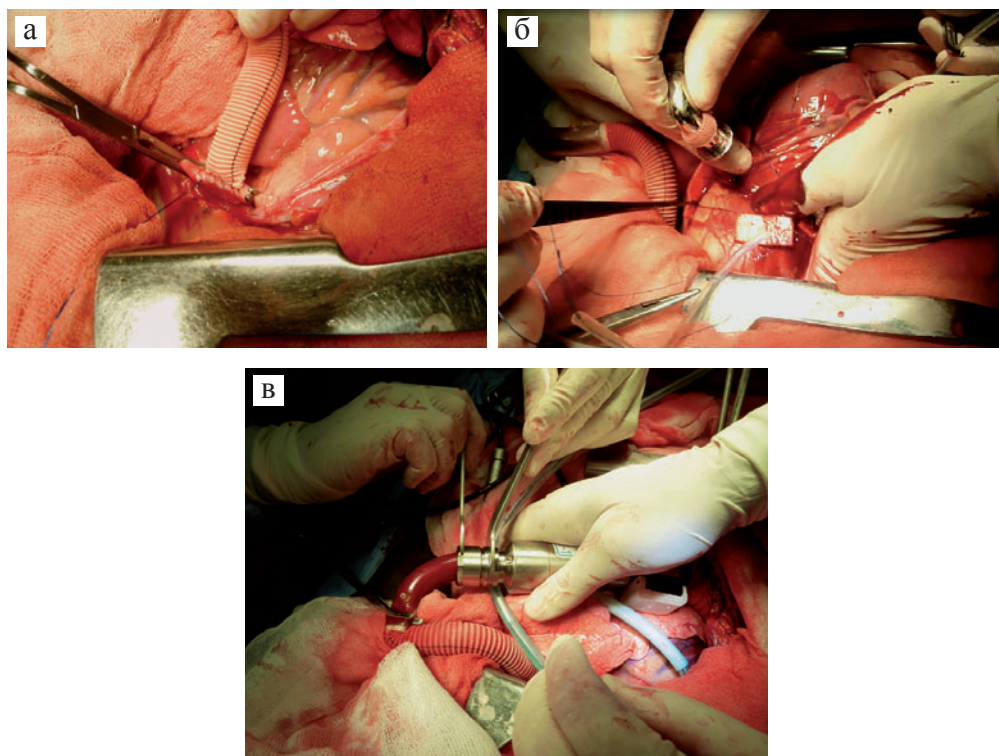


**Рис. 1. Чертеж новой конструкции канюли для ПЖО**

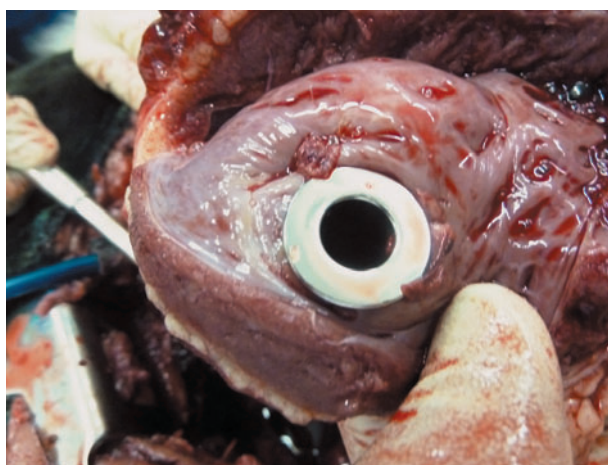


**Рис. 2. Осевой насос с новыми узлами стыковки входной и выходной магистралей**

Отработана схема имплантации насоса для ПЖО в грудную полость тельника с использованием новых разработанных узлов стыковки входной и выходной магистралей с насосом. Отдельные этапы разработанной схемы, включающие наложение анастомоза на легочную артерию, канюляцию правого желудочка и подключение правого насоса представлены на рис. 3.



**Рис. 3.** Этапы имплантации правого насоса: а – анастомоз сосудистого протеза к легочной артерии; б – канюляция правого желудочка; в – подключение правого насоса



**Рис. 4.** Входная канюля после 14-дневного ПЖО (отсутствие тромбов и пролиферации тканей на входе канюли)

Апробированный в длительных (до трех месяцев) экспериментах на телятах ( $n = 5$ ) способ фиксации входной канюли обеспечил надежное ее крепление к тонкой стенке правого желудочка, отсутствие тромбов и обрастания окружающими тканями вследствие их пролиферации (рис. 4).

С помощью ГС в одном из экспериментов моделировали легочную гипертензию (ЛГ) в условиях работы ПЖО с оценкой основных параметров насоса и гемодинамики большого и малого круга кровообращения. Показано, что режим работы ПЖО при моделировании ЛГ аналогичен режиму работы насоса при введении дополнительного ГС.

В процессе исследований была выработана концепция механизмов развития ПЖН при ЛЖО с использованием ННП, основанная на комплексном анализе основных биомеханических процессов взаимодействия левого и правого желудочков и физиологических законах. Разработана система критериев необходимости применения БВО, основанная на гемодинамических и биохимических параметрах пациентов, планируемых на проведение операции по установке ЛЖО.

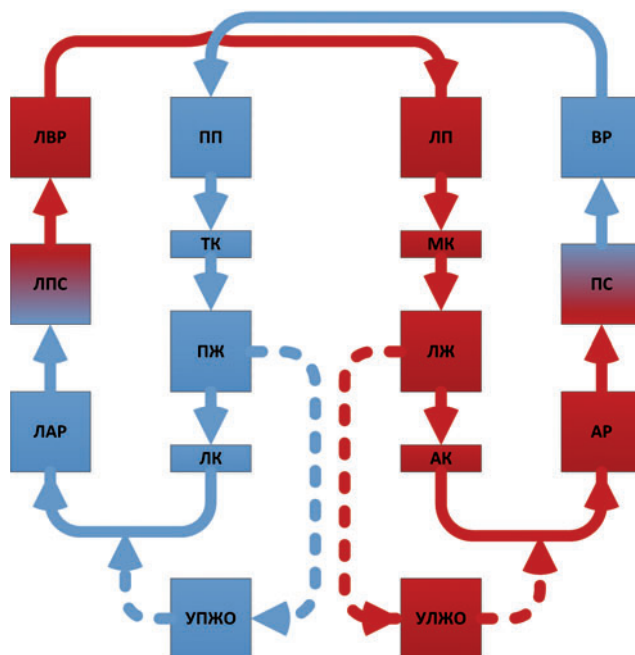
Как показали исследования по использованию макетов двух осевых насосов, их габариты не позволяют разместить оба насоса в грудной полости тельца без существенного уменьшения дыхательного объема легких. В связи с этим насос для ПЖО размещался экстракорпорально, тем более что, как показывает мировая клиническая практика, длительность ПЖО не превышает одного месяца, в течение которого в условиях ПЖО функция правого желудочка восстанавливается.

Разработана структура математической модели большого и малого круга кровообращения (рис. 5).

Проведена верификация математической модели сердечно-сосудистой системы на основе сопоставления мгновенных значений минутного расхода крови насоса, полученных в экспериментах на телятах и на модели. При этом отличие данных параметров, полученных на модели и в эксперименте, составила  $12 \pm 2\%$ . Полученная величина сходства модели и реального объекта является, согласно принятым оценкам, достаточно высокой, что подтверждает адекватность модели на первом этапе проектирования.

Разработанная и верифицированная математическая модель большого и малого круга кровообращения будет использована для последующего моделирования двусторонней сердечной недостаточности в условиях бивентрикулярного обхода.

Полученные результаты выполненного этапа работы будут использованы в планируемых заключительных экспериментах на телятах в 2014 г. с целью разработки методики бивентрикулярного обхода сердца с помощью осевых насосов.



**Рис. 5. Структура математической модели большого и малого круга кровообращения**

В структуру математической модели входит: левое предсердие (ЛП), митральный клапан (МК), левый желудочек (ЛЖ), аортальный клапан (АК), артериальный резервуар (АР), периферическое сопротивление (ПС), венозный резервуар (ВР), правое предсердие (ПП), трикуспидальный клапан (ТК), правый желудочек (ПЖ), легочный клапан (ЛК), легочный артериальный резервуар (ЛАР), легочное периферическое сопротивление (ЛПС), легочный венозный резервуар (ЛВР), устройства левожелудочкового и правожелудочкового обхода (УЛЖО, УПЖО).

## ВЫВОДЫ

1. Проведенная серия экспериментов показала существенное отличие условий функционирования правого и левого насоса с точки зрения уменьшения гидравлической нагрузки в (5–6 раз) и пульсаций давления на входе насоса (1,5–2 раза).
2. Новые узлы стыковки входной и выходной магистралей с насосом показали высокую надежность данных соединений при длительной имплантации. Разработанная и апробированная конструкция канюли для забора крови из правого желудочка обеспечивает надежное крепление к тонкой стенке правого желудочка и длительное функционирование без образования тромбов и обрастания тканями вследствие их пролиферации.
3. Комплексный анализ основных биомеханических процессов взаимодействия левого и правого обходов позволит произвести оценку влия-

ния разгрузки левого желудочка на объемные характеристики правого желудочка.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментальных исследований бивентрикулярного обхода сердца показали возможность использования данного метода механической поддержки сердца. Поскольку условия работы правого и левого насоса значительно отличаются, необходимо на следующем этапе работы переработать конструкцию правого насоса с целью снижения вероятности образования тромбов за счет изменения внутринасосной гемодинамики. С учетом того что восстановление функции правого желудочка на фоне медикаментозной поддержки проходит значительно быстрее, чем восстановление левого желудочка, оптимальной можно считать схему БВО с имплантацией в грудную полость насоса для ЛЖО и экстракорпоральным подключением насоса для ПЖО. Несомненно, комплексный анализ биомеханического взаимодействия левого и правого желудочков сердца в условиях ЛЖО может быть использован для создания новых, более оптимальных методов МПК.

## Список использованных источников

1. *Stevenson L.W., Kormos R.L.* Mechanical Cardiac Support 2000: Current Applications and Future Trial Design // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2001. – Vol. 20. – P. 1–38.
2. *Kirklin J.K., Naftel D.C., Kormos R.L., Stevenson L.W., Pagani F.D., Miller M.A., Baldwin J.T., Young J.B.* The Fourth INTERMACS Annual Report: 4,000 implants and counting // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2012. – Vol. 31. – P. 117–126.
3. *Bartoli C.R., Dowling R.D.* The future of adult cardiac assist device: novel systems and mechanical circulatory support strategies // *Cardiol. Clin.* – 2011. – Vol. 29. – P. 559–582.
4. *Terracciano C.M., Leslie W., Miller L.W., Yacoub M.H.* Contemporary use of ventricle assist device // *Annu. Rev. Med.* – 2010. – Vol. 61. – P. 255–270.
5. *Wilson S.W., Givertz M.M., Stewart G.C., Gilbert H., Mudge G.H.* Ventricular Assist Devices. The Challenges of Outpatient Management // *JACC*. – 2009. – Vol. 54. – P. 1647–1659.
6. *Potapov E.V., Loforte A., Weng Y., Jurmann M., Pasic M., Drews T., Loebe M., Hennig E., Krabatsch T., Koster A., Lehmkuhl H.B., Hetzer R.* Experience with over 1000 implanted ventricular assist devices // *J. Card. Surg.* – 2008. – Vol. 23 (3). – P. 185–194.
7. *Furukawa K., Motomura T., Nosé Y.* Right ventricular failure after left ventricular assist device implantation: the need for an implantable right ventricular assist device // *Artif. Organs*. – 2005. – Vol. 29. – P. 369–377.

## **Список научных работ, опубликованных в ходе выполнения НИР**

1. *Иткин Г.П., Попцов В.Н.* Механизмы правожелудочковой недостаточности при левожелудочковом обходе сердца // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 4. – С. 126–137.
2. *Быков И.В., Иткин Г.П.* Принципы построения математической модели для исследования взаимодействия насосов непрерывного потока и сердечно-сосудистой системы // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 59–65.
3. Ноу-хау на конструкцию канюли. Приказ директора ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России 33/17.05.2013.

## **РАЗРАБОТКА МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИХ ТРЕБОВАНИЙ К ОСЕВОМУ НАСОСУ ДЛЯ ДВУХЭТАПНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА У ДЕТЕЙ**

**(по материалам промежуточного отчета о научно-исследовательской работе)**

*Иткин Г.П., Сысоев А.А.*

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

---

**Двухэтапная трансплантация сердца у детей, вспомогательное кровообращение, осевой насос, расходно-напорные характеристики, трехмерная математическая модель, гидродинамический стенд.**

---

**Объект исследования:** Осевой насос для двухэтапной трансплантации сердца у детей.

**Цель работы:** разработать технологию проектирования макетного образца осевого насоса для лечения пациентов младшего возраста с врожденными и приобретенными пороками, включая двухэтапную трансплантацию сердца у детей.

**Результаты работы.** Методом компьютерного моделирования проведена дальнейшая оптимизация конструкции рабочего колеса и спрямителя потока с целью снижения скорости вращения рабочего колеса и минимизации тромбообразования. С помощью метода лазерного прототипирования изготовлены основные узлы осевого насоса, собран и испытан на гидродинамическом стенде макет осевого насоса с внешним приводом. Полученные расходно-напорные характеристики насоса полностью соответствуют расчетным характеристикам и использованы для проектирования и изготовления макета осевого насоса с встроенным бесконтактным двигателем постоянного тока.

**Область применения:** разработка медицинской аппаратуры.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Разработка технических средств для лечения пациентов младшего возраста с врожденными и приобретенными пороками сердца, связанными с функциональным нарушением сократительной функции миокарда, в

последнее десятилетие является одним из приоритетных направлений развития методов механической поддержки кровообращения (МПК). Это связано с практическим отсутствием подобных средств, которые в настоящее время за рубежом находятся на стадии разработки методов, технологий и отдельных технических решений [1–3].

В последние годы одним из наиболее распространенных методов вспомогательного кровообращения (ВК) для лечения маленьких пациентов является метод экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) [4]. Однако применение данного метода ограничено длительностью его использования до 2–3 недель и может быть реализовано только в стационарных госпитальных условиях. Для длительной внегоспитальной МПК у детей может быть использована практически единственная система EXCOR (Berlin Heart AEG) [5], основой которой являются паракорпоральные мембранные насосы с пневматическим приводом. Однако данная система обладает всеми теми же недостатками, которые имеют все системы ВК, в своей основе построенные на насосах пульсирующего потока (НПП). Это прежде всего невысокая надежность и ограниченный ресурс по сравнению с насосами непрерывного неппульсирующего потока (ННП). Поэтому в клинической практике применения ВК для взрослых пациентов в последние годы получили наибольшее распространение ННП (более 94%) [6]. Сложность создания подобных систем для маленьких пациентов объясняется прежде всего ограничениями, связанными с размещением этих насосов в грудной или абдоминальной области. С другой стороны, как показали исследования, восстановление миокарда у детей на фоне ВК происходит более ускоренно, особенно у детей с наиболее часто встречающейся формой сердечной недостаточности, развивающейся вследствие инфекционного миокардита [7], и требования к созданию пролонгированной МПК могут быть снижены по сравнению с аппаратами ВК для взрослых пациентов. Поэтому, исходя из указанных особенностей применения ВК у маленьких пациентов, была поставлена задача определения медико-технических требований для разработки осевого насоса для МПК у детей на основе малогабаритных насосов осевого типа отечественного носимого аппарата ВК.

Целью всего исследования явилась разработка основ для проектирования макетного образца осевого насоса с встроенным двигателем для механической поддержки кровообращения у детей младшего возраста с учетом анатомических и гемодинамических особенностей.

На первом этапе работы в 2012 г. были определены предварительные требования к конструкции осевого насоса для детей. Спроектирована трехмерная динамическая математическая модель, которая позволила провести сравнительную оценку различных вариантов конструкций основных элементов и оценить динамику течения крови.



На втором этапе работы в 2013 г. производились: оптимизация математической модели; разработка и изготовление макетного образца с внешним приводом и исследования расходно-напорных характеристик; разработка конструкции насоса и его деталей.

### **Задачи исследования**

1. Оптимизировать трехмерную математическую модель осевого насоса с целью снижения скорости вращения рабочего колеса и минимизации риска тромбообразования.
2. Разработать и изготовить макет осевого насоса с внешним приводом и исследовать расходно-напорные характеристики на гидродинамическом стенде.
3. Разработать конструкцию насоса и его деталей с встроенным в насос электродвигателем постоянного тока.

### **ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

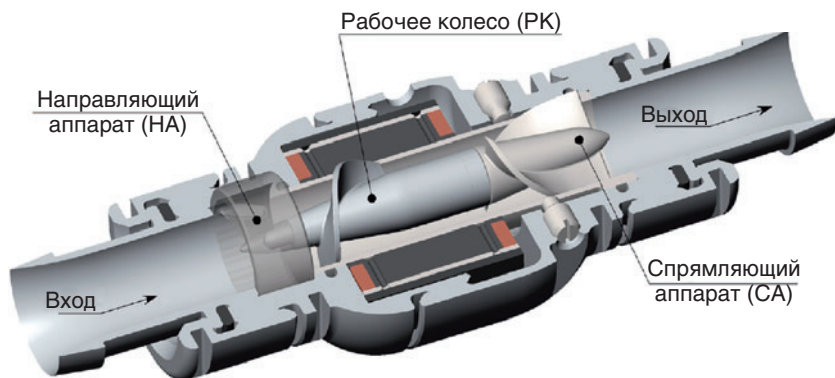
*Основные методы исследования:* проектирование параметрических трехмерных моделей, разработка параметрических расчетных схем решения задач течения жидкости, расчеты течения жидкости в проточной части насоса методами вычислительной гидродинамики, решение задач математической оптимизации; создание функциональных макетов с различной геометрией по технологии лазерного трехмерного прототипирования; стендовые испытания макетов, включающие в себя снятие их расходно-напорных характеристик, статистическая обработка данных.

*Используемые средства, материально-техническое оснащение:* персональные компьютеры, лицензионное статистическое программное обеспечение, инструменты для доработки макетов, изготовленных по технологии лазерного трехмерного прототипирования, материалы и другие средства для изготовления основных узлов испытательного стенда, гидродинамический стенд.

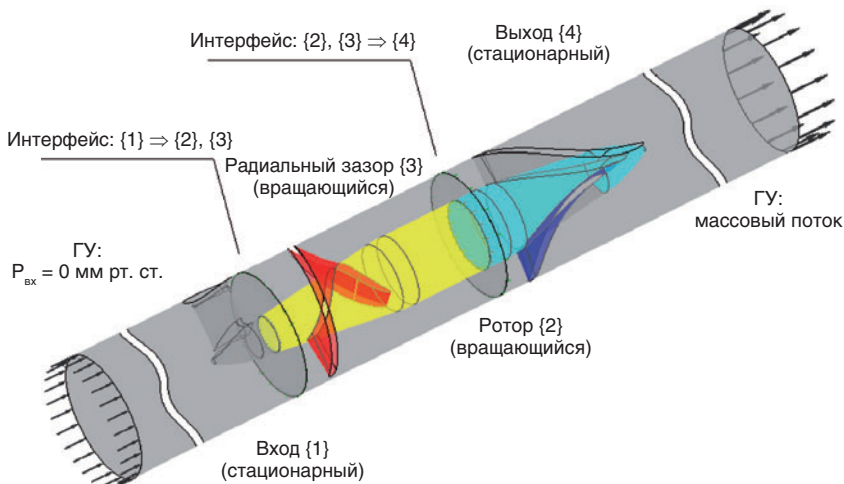
Методом компьютерного моделирования проводилась дальнейшая оптимизация конструкции рабочего колеса и спрямителя потока (СП) с целью снижения скорости вращения рабочего колеса (РК) при сохранении заданного расхода и перепада давления, являющейся критичной с точки зрения износа подшипниковой пары скольжения. Трехмерная модель детского насоса показана на рис. 1.

В процессе оптимизации модифицировались развертки корневых и периферийных частей РК и СП, причем геометрия лопаток РК была адаптирована с учетом технологии изготовления осевого насоса (ОН), а также оценивались наилучшее взаимное расположение РК и СП, расстояние от среза лопаток РК до кромок лопаток СП с точки зрения минимизации

риска тромбообразования. Расчетная схема проточной части насоса показана на рис. 2.



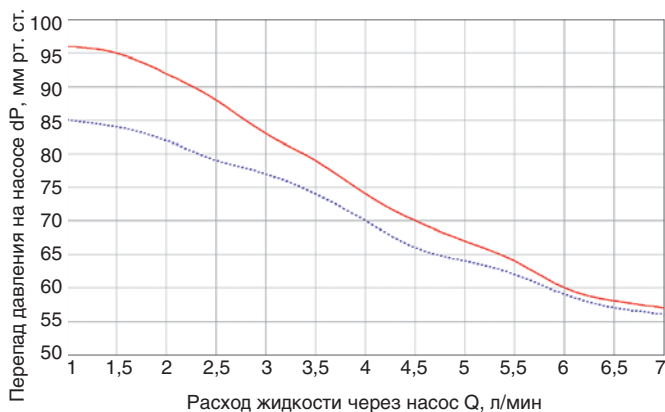
**Рис. 1.** Трехмерная компьютерная модель детского насоса



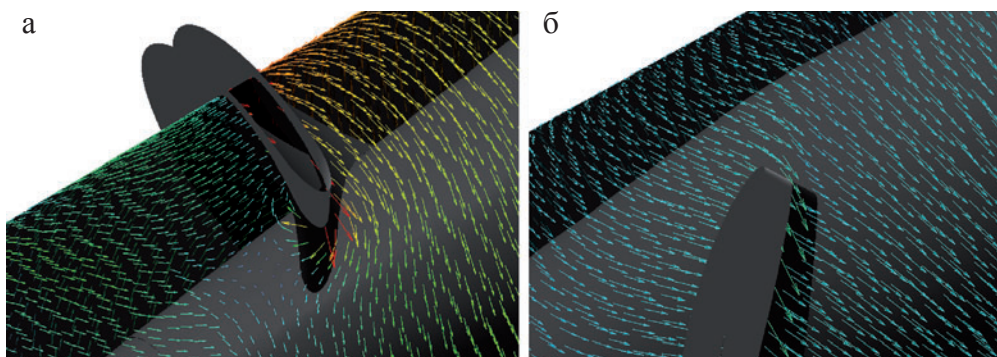
**Рис. 2.** Расчетная схема проточной части насоса

На рис. 3 показана сравнительная расходно-напорная характеристика, полученная на математической модели до и после оптимизации исходной модели.

Риск тромбообразования в полостях насоса оценивался по минимальной скорости частиц, проходящих через область РК. Резкое изменение скорости и направления потока можно наблюдать в области входной и выходной кромок лопатки (рис. 4). Именно в этих областях возможно наличие зон стагнации, в которых находятся частицы с околонулевыми скоростями. По модулю этих скоростей можно судить о риске тромбообразования.



**Рис. 3.** Расходно-напорная характеристика ОН до (пунктирная) и после (сплошная) оптимизации



**Рис. 4.** Область входной (а) и выходной (б) кромки лопатки РК

На основании данных исследований методом лазерного прототипирования изготовлены основные детали ОН и узлов стыковки с гидродинамическим стендом. Проведены испытания макета ОН с внешним приводом на гидродинамическом стенде для снятия расходно-напорных характеристик.

В таблице приведены значения модулей скоростей для различных вариантов геометрии лопатки.

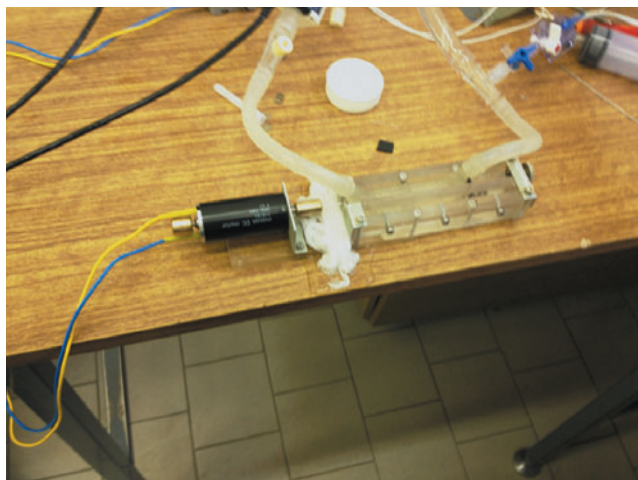
*Таблица*

**Модули скоростей для различных вариантов геометрии лопатки**

Модель	Минимальный модуль скорости в области входной кромки лопатки РК, м/с	Минимальный модуль скорости в области выходной кромки лопатки РК, м/с
Исходная	0,034	2,42
Оптимизированная	0,205	2,71

Из этих значений видно, что с повышением гидравлической эффективности лопадки увеличиваются и модули скоростей жидкости в слоях в непосредственной близости к поверхности лопадки, а следовательно, меры повышения гидравлической эффективности РК одновременно являются мерами снижения риска тромбообразования в области РК.

На основании данных исследований методом лазерного прототипирования изготовлены основные детали ОН и узлов стыковки с гидродинамическим стендом. Проведены испытания макета ОН с внешним приводом на гидродинамическом стенде для снятия расходно-напорных характеристик, которые показали возможность обеспечения заданного расхода (до 2,5 л/мин при перепаде 80 мм рт. ст.) при скоростях вращения ротора  $17000 \pm 500$  об./мин (рис. 5).



**Рис. 5. Испытания детского насоса с внешним приводом на гидродинамическом стенде**

Проведен расчет статора встраиваемого бесколлекторного двигателя постоянного тока (БДПТ), разработан и изготовлен пакет статорных пластин и передан в специализированное предприятие (г. Мичуринск) для изготовления статора для ОН. Определены параметры магнита РН. Разработан статор и ротор БДПТ для встраивания в макет ОН. Разработана эскизная документация конструкции данного ОН со встроенным в насос БДПТ.

Ориентировочно габариты данного насоса  $24 \times 76$  мм. Изготовлены габаритные макеты ОН и блока управления (рис. 7).

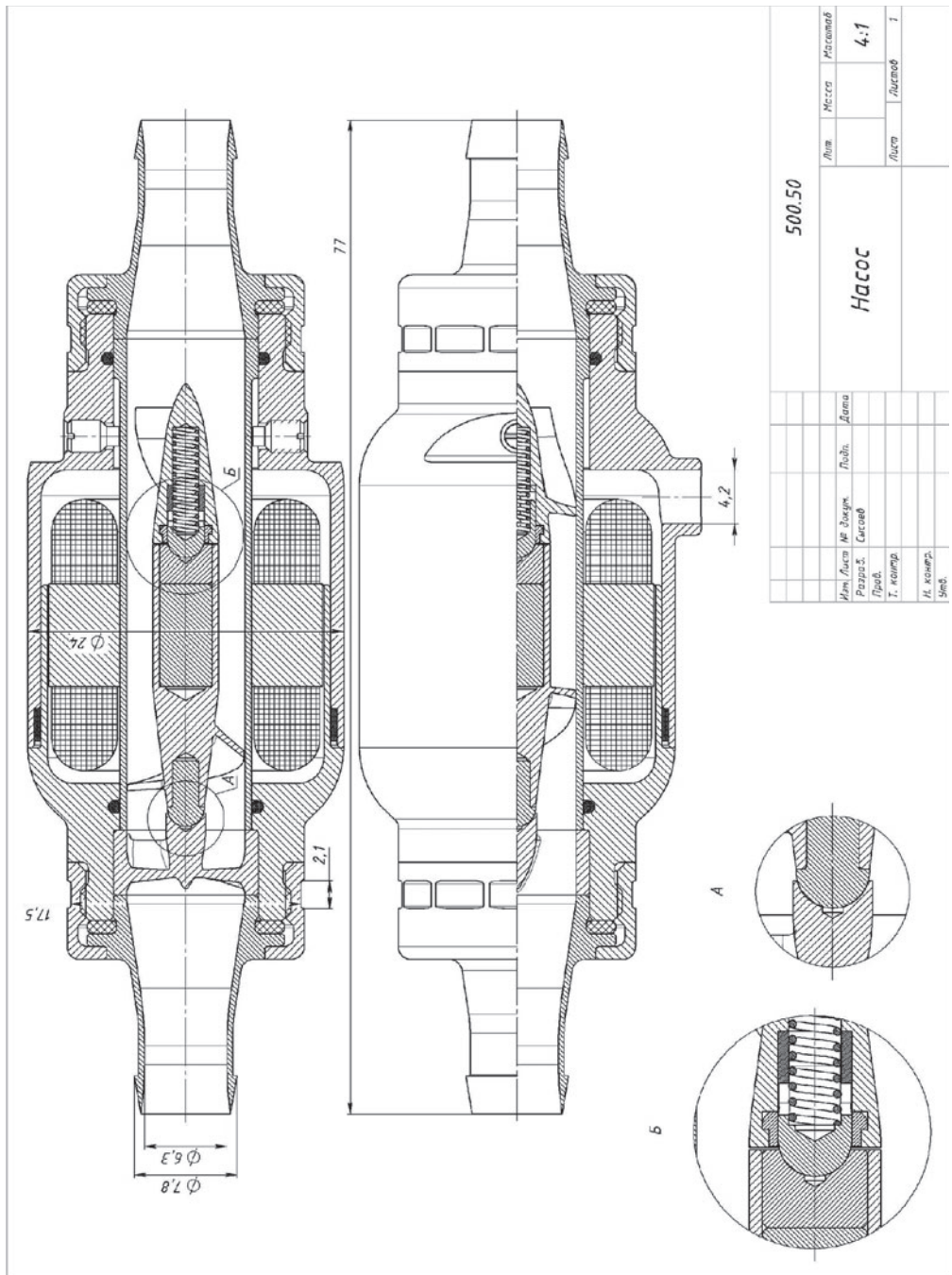
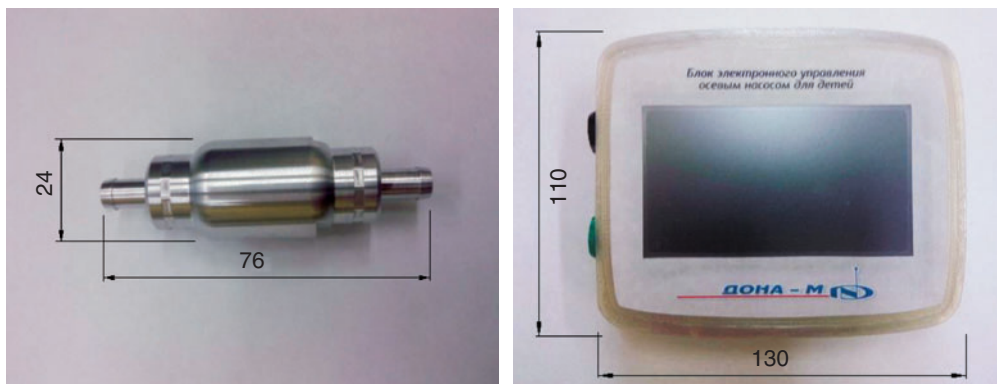


Рис. 6. Общий вид конструкции насоса



**Рис. 7. Габаритные макеты ОН и блока управления**

## **ВЫВОДЫ**

В результате оптимизирована трехмерная математическая модель детского осевого насоса с целью снижения скорости вращения рабочего колеса и минимизации риска тромбообразования.

В процессе проведенной работы был разработан и изготовлен макет детского осевого насоса с внешним приводом. Расходно-напорные характеристики насоса, снятые на гидродинамическом стенде, полностью удовлетворяют заданным требованиям.

Разработана конструкция насоса и его деталей со встроенным электродвигателем постоянного тока.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Поставленные задачи в 2013 году выполнены в полном объеме.

Результаты проведенных исследований могут быть использованы для создания действующего макета ОН и проведения его испытания на гидродинамическом стенде с целью разработки медико-технических требований к осевому насосу для двухэтапной трансплантации сердца у детей.

## **Список использованных источников**

1. *Duncan B.W., Fukamachi K., Noble L.D., David T., Dudzinski D., Flick C.R., Fumoto H., Shiose A., Arakawa Y., Takaseya T., Casas F., Smith W.A.* The Pedi-Pump: A Versatile, Implantable Pediatric Ventricular Assist Device—Update IV // *Artificial organs.* – 2009. – Vol. 33 (11). – P. 1005–1008.
2. *Throckmorton A.L., Lim D.S., McCulloch M.A., Jiang W., Allaire P.E., Wood H.G., Olsen D.B.* Computational Design and Experimental Song X., Performance

- Testing of an Axial-Flow Pediatric Ventricular Assist Device // *ASAIO Journal*. – 2005. – Vol. 51. – P. 629–635.
3. *Ando Y., Kitao T., Nagaoka E., Kimura T., Yokoyama Y., Yoshikawa M., Tomi-naga R., Takatani S.* One-month biocompatibility evaluation of the pediatric TinyPump in goats // *Artif Organs*. – 2011 Aug. – Vol. 35 (8). – P. 813–818.
  4. *Duncan B.W.* Pediatric Mechanical Circulatory Support in the United States: Past, Present, and Future // *ASAIO Journal*. – 2006. – Vol. 52. – P. 525–529.
  5. *Throckmorton A.L., Chopskis G.* Pediatric Circulatory Support: Current Strategies and Future Directions. Biventricular and Univentricular Mechanical Assistance // *ASAIO Journal*. 2008. – 54. – P. 491–497.
  6. *Kirklin K., Naftel D., Kormos R., Stevenson L.W., Pagani F.D., Miller M.A., Baldwin J.T., Young J.B.* The Fourth INTERMACS annual Report: 4,000 implants and counting // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2012. – 31 (2). – P. 117–126.
  7. *Baldwin J.T., Borovetz H.S., Duncan B.W., Gartner M.J., Jarvik R.K., Weiss W.J.* The National Heart, Lung, and Blood Institute Pediatric Circulatory Support Program A Summary of the 5-year Experience // *Circulation*. – 2011. – Vol. 123. – P. 1233–1240.





---

**НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ  
РЕЗУЛЬТАТЫ НИР ЗА 2013 г.  
ПО КОМПЛЕКСНОЙ ПРОБЛЕМЕ  
МЕДИЦИНЫ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ  
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»  
(по материалам отчета в научный  
совет по трансплантологии  
и искусственным органам)**

---

## **НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НИР ЗА 2013 г. ПО КОМПЛЕКСНОЙ ПРОБЛЕМЕ МЕДИЦИНЫ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ» (по материалам отчета в научный совет по трансплантологии и искусственным органам)**

В 2013 году запросы были направлены в 20 научно-исследовательских учреждений различных ведомств: Минздрава России, РАМН, Департамента здравоохранения г. Москвы, Департамента здравоохранения г. Санкт-Петербурга, МЗ Московской области.

Согласно представленным данным, в 2013 г. велись исследования по 26 научным темам в области трансплантологии и искусственных органов. К 31 декабря 2013 года закончена разработка 6 НИР (23,1%), из них 3 прикладных и 3 фундаментальных. Финансирование всех научных разработок осуществлялось из бюджета Минздрава России.

По данным присланных отчетов, в разработке проблемы приняли участие 136 сотрудников научно-исследовательских учреждений, из них со степенью доктора наук – 39 (28,7%), кандидата наук – 71 (52,2%).

В результате завершенных в 2013 году исследований получены следующие данные по отдельным направлениям проблемы. В отчет включены также данные по переходящим НИР, имеющие важные для науки и практики результаты.

### **ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ**

В результате комплекса клинических, биохимических, иммунологических, гистохимических исследований, внедрения результатов научных работ, решения организационных и технологических проблем доступности трансплантации сердца достигнуто значительное увеличение числа трансплантаций гражданам России: в 2013 году в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России выполнено 102 трансплантации сердца. Разработаны и усовершенствованы методические подходы к использованию различных вариантов вспомогательного кровообращения в кардиохирургии и трансплантологии, что

создает возможность последующего успешного выполнения трансплантаций сердца.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

Разработаны и усовершенствованы технологии трансплантации органов от АВ0-несовместимых доноров. Разработаны протоколы предоперационной подготовки и ведения пациентов и выполнены трансплантации сердца, почки, печени реципиентам от доноров, несовместимых по группе крови. Разработана концепция прогнозирования функции трансплантата в посттрансплантационном периоде на основе иммунохимического анализа биомаркеров активации иммунной системы (sCD30, sCD40L, неоптерин) и факторов роста (инсулиноподобный, плацентарный факторы роста) при трансплантации от АВ0-несовместимых доноров. С учетом углубленного иммунологического мониторинга на до- и посттрансплантационных этапах и изучения влияния преобладающих антител на клинические результаты трансплантации разработаны способы пролонгирования функции трансплантата путем селективной элиминации антител, угнетения их синтеза. Доказана возможность, эффективность и безопасность АВ0-несовместимых трансплантаций солидных органов при отсутствии АВ0-совместимого донора.

Полученные результаты позволяют проводить трансплантации пациентам, не имеющим совместимого по группе крови потенциального донора сердца, почки, печени, в число которых входят дети раннего возраста в терминальной стадии печеночной недостаточности.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

На материале обследования 140 реципиентов сердца изучены молекулярные механизмы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата. Доказана возможность и разработаны способы прогнозирования развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца у реципиентов на основе анализа преобладающих антител, выявления в крови повышенных уровней ангиогенных, протромбогенных, провоспалительных биомаркеров, с учетом взаимного влияния различных факторов.

Результаты проведенного исследования могут быть использованы для прогнозирования развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца. Внедрение в практическое здравоохранение результатов исследования полезно для снижения числа осложнений у реципиентов сердца, увеличения продолжительности и улучшения качества жизни.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

У реципиентов сердца выявлены плейотропные эффекты длительной иммуносупрессивной терапии, потенциально влияющие на состояние ок-

сидативного равновесия и отражающие индивидуальную реактивность реципиентов: снижение концентрации медь- и железосодержащих (церулоплазмина и гаптоглобина) белков в плазме крови.

При изучении влияния статинов на динамику биомаркеров риска развития васкулопатии трансплантата у реципиентов сердца установлено, что в первые месяцы после трансплантации сердца нелипидные эффекты розувастатина проявляются снижением уровней биомаркеров воспаления, неоангиогенеза и тромбообразования, что может являться одним из механизмов позитивного действия статинов при профилактике васкулопатии трансплантата в условиях иммуносупрессии.

Применение полученных результатов в клинической практике может улучшить отдаленные результаты трансплантаций сердца, увеличить продолжительность и улучшить качество жизни реципиентов.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

Разработан протокол выделения и органотипической консервации аллогенных лимбальных трансплантатов, позволяющий сохранять клеточно-тканевую архитектуру и активировать иммуносупрессивные и толерогенные свойства мультипотентных мезенхимных стромальных клеток лимба глазного яблока донора-трупа. Показана возможность сохранения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток лимба в жизнеспособном состоянии без потери функциональной активности после их дефростации. Доказана клиническая эффективность одномоментной сквозной кератопластики и пересадки лимбальных трансплантатов, прошедших предварительную стадию органотипической консервации и обладающих иммуносупрессивными свойствами, что обеспечивает защиту и повышение жизнеспособности трансплантата роговицы, выражающуюся в меньшей потере эндотелиальных клеток и большем проценте прозрачных приживлений как минимум в течение первого года после кератопластики.

**(ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. ак. С.Н. Федорова Минздрава России, ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

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

По результатам разработки и создания имплантируемых аппаратов вспомогательного кровообращения произведены экспериментальные исследования и оптимизация конструкции осевого насоса с блоком управления (искусственный левый желудочек). Разработанный первый оте-

чественный искусственный левый желудочек сердца был успешно имплантирован пациенту, который спустя 9 месяцев перенес трансплантацию донорского сердца. Проводится разработка бивентрикулярного обхода сердца с помощью осевых насосов. Разрабатывается осевой насос для двухэтапной трансплантации сердца у детей.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

В ходе выполнения программы «Создание клапанных и сосудистых криоконсервированных гомографтов с элементами тканевой модификации» разработан протокол рецеллюляризации сосудистого кондуита. Построены физическая и математическая модели кровотока в сосуде со стенозом. С помощью математической модели рассчитана скорость кровотока в общей сонной артерии с S-образной извитостью и касательные напряжения жидкости на стенке сосуда. Показаны области на стенке общей сонной артерии, опасные с точки зрения развития атеросклероза.

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

По программе «Экспериментальные и клинические исследования по новой методике защиты миокарда от ишемического/реперфузионного повреждения» проведен сравнительный анализ эффективности локального и дистального, а также фармакологического прекондиционирования миокарда с оптимизированным профилем безопасности. В результате проведенных исследований подтвержден кардиопротективный эффект ингибиторов программируемой клеточной гибели.

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

## **ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ КЛЕТОЧНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ**

Создана клеточно-инженерная конструкция печени на основе ассоциатов клеток печени и биodeградируемого матрикса (биополимерного гетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля). В эксперименте на модифицированной модели хронической печеночной недостаточности доказана ее функциональная эффективность в течение продолжительного (более 9 месяцев) времени.

Результаты исследования могут быть использованы для создания биоискусственной печени, пригодной для коррекции тяжелых форм печеночной недостаточности.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

В экспериментах доказана возможность создания тканеинженерной конструкции поджелудочной железы с использованием биополимерного биодеградируемого гидрогеля и прогениторных клеток поджелудочной железы с целью стимуляции регенерации  $\beta$ -клеток у больных сахарным диабетом.

Полученные результаты могут быть использованы при разработке нового высокотехнологичного метода лечения больных сахарным диабетом.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

Получены первые результаты при разработке и экспериментальных исследованиях тканеинженерных конструкций хряща: в эксперименте выявлены признаки формирования тканеинженерной конструкции хрящевой ткани человека в месте имплантации клеточно-инженерной конструкции, созданной на основе биополимерного матрикса с введенными в него в хондрогенной среде мезенхимальными стволовыми клетками жировой ткани человека.

**(ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России)**

На основании результатов трехлетнего наблюдения за 134 больными ИБС показано позитивное влияние на отдаленные клинические результаты непрямой трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации в сочетании с имплантацией мононуклеарной фракции красного костного мозга. Доказано, что данный метод является безопасным и эффективным в лечении ишемической болезни сердца, способствует восстановлению перфузии гибернированного миокарда и улучшению сократительной способности миокарда.

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

На основании результатов обследования и лечения 104 больных ИБС с диффузным или дистальным поражением коронарного русла, которым ранее выполнялось коронарное шунтирование, показано, что трансэндокардиальное введение в миокард мононуклеарной фракции аутологичных клеток красного костного мозга с использованием навигационной системы является безопасным, приводит к уменьшению проявлений сердечной недостаточности и улучшению сердечной функции.

Результаты исследования могут быть использованы в клинической практике для улучшения результатов лечения больных ИБС.

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

На первом этапе разработки методов приготовления модифицированных тканеинженерных протезов клапанов сердца разработаны способы децеллюляризации сосудистых графтов, получения и оценки функционального состояния клеточного материала.

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

На основании оценки результатов имплантации биологических протезов клапанов сердца (каркасных и бескаркасных, ксеноаортальных и ксеноперикардальных) доказана их эффективность и обоснованы конструктивные особенности различных моделей ксенопротезов.

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

Разработаны способ получения монослоя интактных клеток ретинального пигментного эпителия с сохранением архитектоники индивидуальных образцов клеток, выделенных из различных участков глазного дна кадаверных глаз человека, и экспериментальная модель фотоокисления липофусциновых гранул ретинального пигментного эпителия.

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

Разработана технология получения сфероидов и на их основе микро-тканей, содержащих эпителиоподобные и мезенхимоподобные клетки и волокна внеклеточного матрикса с упорядоченной организацией коллагеновых фибрилл, соответствующей структуре стромы роговицы.

Полученные результаты дают возможность для создания биоинженерной конструкции искусственной роговицы с использованием 3D-клеточных сфероидов из стволовых/прогениторных эпителиоидных и мезенхимальных клеток лимбальной зоны глаза.

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

Разработана методика конструирования трансплантата пигментного эпителия сетчатки на основе пигментного эпителия сетчатки из глаз доноров-трупов; спроектировано устройство для механической фиксации тканей заднего отрезка глаза, созданы прототипные образцы; создан прототип экспериментальной *ex vivo* модели тканевого комплекса «слой пигментного эпителия сетчатки – мембрана Бруха – хориоидея».

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





---

**IV. КНИГИ И МОНОГРАФИИ,  
ОПУБЛИКОВАННЫЕ В 2013 г.  
ПО ПРОБЛЕМЕ  
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ**

---

## КНИГИ И МОНОГРАФИИ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ В 2013 г. ПО ПРОБЛЕМЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

Готье С.В., Попцов В.Н., Спирина Е.А. **Экстракорпоральная мембранная оксигенация в кардиохирургии и трансплантологии.** – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2013. – 272 с.: ил.

ISBN 978-5-94789-614-5



### *Рецензенты*

Караськов Александр Михайлович – академик РАН, д. м. н., директор ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск.

Чазов Евгений Иванович – академик РАН, д. м. н., член Президиума РАМН, генеральный директор ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Основой монографии явился опыт ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» по ведению пациентов, находящихся на экстракорпоральной

мембранной оксигенации (ЭКМО). В книге изложены основополагающие вопросы проведения процедуры ЭКМО, исторические аспекты ее применения, физиология экстракорпорального кровообращения и газообмена, техническое обеспечение, показания к применению, методика канюляции, возможные осложнения и др. Представлен собственный и зарубежный опыт применения ЭКМО у различных категорий кардиохирургических больных, а также при подготовке и выполнении трансплантации жизненно важных органов – сердца, легких, сердечно-легочного комплекса, печени.

Книга предназначена специалистам в области сердечно-сосудистой хирургии, трансплантологии, анестезиологии и реаниматологии, перфузиологии и других специальностей.

## Содержание книги

Список сокращений

Введение

**Глава 1.** Исторические аспекты развития экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 2.** Физиологические аспекты экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 3.** Устройство и функционирование мембранного оксигенатора

**Глава 4.** Управление теплообменом при проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 5.** Насос крови

**Глава 6.** Артериальные и венозные канюли

**Глава 7.** Антикоагулянтная терапия при проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 8.** Вено-венозная экстракорпоральная мембранная оксигенация

**Глава 9.** Вено-артериальная мембранная оксигенация

**Глава 10.** Вено-артерио-венозная экстракорпоральная мембранная оксигенация

**Глава 11.** Самопоточная артериовенозная экстракорпоральная мембранная оксигенация

**Глава 12.** Периферическая методика канюляции при проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 13.** Объемная разгрузка левого желудочка при периферической вено-артериальной мембранной оксигенации

**Глава 14.** Вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация при коррекции посткардиотомной сердечной недостаточности

**Глава 15.** Вено-артериальная экстракорпоральная мембранная оксигенация и сердечно-легочная реанимация; мембранная оксигенация при фульминантном миокардите

**Глава 17.** Экстракорпоральная мембранная оксигенация и органное донорство

**Глава 18.** Экстракорпоральная мембранная оксигенация при подготовке и выполнении трансплатации сердца

**Глава 19.** Экстракорпоральная мембранная оксигенация при трансплантации легких и сердечно-легочного комплекса

**Глава 20.** Экстракорпоральная мембранная оксигенация при трансплантации печени экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 21.** Мониторинг при проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации

**Глава 22.** Организационные аспекты и образовательная программа подготовки специалистов для проведения экстракорпоральной мембранной оксигенации

Список использованной и рекомендуемой литературы

**Трансплантология. Фармакотерапия без ошибок.** Руководство для врачей / Под ред. С.В. Готье, Я.Г. Мойсюка. – М.: Е-нота, 2014. – 432 с. ISBN 978-5-906023-05-6



*Серия «Фармакотерапия без ошибок» посвящена одной из наиболее актуальных проблем, с которыми сталкивается врач в повседневной практике. Выбор оптимальной тактики лечения даже при наличии международных рекомендаций по терапии конкретных заболеваний является сложной задачей, а лечение пациента требует индивидуального подхода: учета особенностей течения заболевания, наличия сочетанной патологии, возраста больного и других факторов. Именно поэтому даже формальное соблюдение стандартов и следование современным рекомендациям не всегда позволяет назначить оптимальную терапию. Кроме того, при назначении лечения часто совершаются типичные ошибки.*

В кратком руководстве «Трансплантология. Фармакотерапия без ошибок» приведены протоколы, рекомендованные зарубежными и отечественными профессиональными обществами. Современные схемы лечения сочетаются с описанием препаратов, анализом самых распространенных ошибок, а также способов их предотвращения и коррекции. Отдельные разделы книги посвящены вопросам коррекции метаболических и инфекционных осложнений у пациентов после трансплантации солидных органов.

Руководство предназначено для врачей-трансплантологов, нефрологов, гепатологов, врачей общей практики, а также аспирантов, ординаторов, интернов и студентов старших курсов медицинских вузов. Краткое руководство «Трансплантология. Фармакотерапия без ошибок» станет для врача незаменимым помощником благодаря лаконичной структуре материала, удобной «навигации», компактности и современному полиграфическому исполнению.

Авторы и коллектив редакции предприняли максимум усилий, чтобы обеспечить высокую достоверность представленной информации, в том числе доз и режимов применения лекарственных средств. Одна-

ко учитывая вероятность появления новых результатов клинических исследований, мы рекомендуем уточнять дозы лекарственных средств по официальным инструкциям. Книга предназначена для специалистов, пациенты не могут использовать эту информацию для самолечения.

## Содержание книги

Предисловие

Коллектив авторов

Сокращения и условные обозначения

**Глава 1.** Роль фармакотерапии в трансплантологии

*Я.Г. Мойсюк*

**Глава 2.** Клинико-фармакологическая характеристика иммуносупрессивных препаратов

*Я.Г. Мойсюк, В.С. Покровский*

Ингибиторы кальциневрина

Глюкокортикоиды

Препараты микофеноловой кислоты (микофенолаты)

Ингибиторы пролиферативного сигнала (mTOR-ингибиторы)

Антиметаболиты

Антитимоцитарные иммуноглобулины

Моноклональные антитела к рецептору интерлейкина-2

Моноклональные антитела к CD20

Препараты человеческого иммуноглобулина

**Глава 3.** Лекарственный мониторинг и взаимозаменяемость оригинальных и генерических иммунодепрессантов с узким терапевтическим индексом

*Е.С. Столяревич*

Принципы лекарственного мониторинга иммунодепрессантов

Использование генерических аналогов иммунодепрессантов

**Глава 4.** Режимы иммуносупрессивной терапии после трансплантации различных органов

Имуносупрессивная терапия после трансплантации почки

*Я.Г. Мойсюк, Н.А. Томилина, Е.С. Столяревич, Е.И. Прокопенко, А.И. Сушков*

Имуносупрессивная терапия после трансплантации поджелудочной железы

*С.В. Арзуманов*

Имуносупрессивная терапия после трансплантации печени

*Я.Г. Мойсюк*

Имуносупрессивная терапия после трансплантации сердца

*А.Я. Кормер, В.М. Захаревич, Т.А. Халилулин*

**Глава 5.** Коррекция сердечно-сосудистых и метаболических осложнений после трансплантации

*И.Г. Ким, Е.И. Прокопенко, А.А. Сибякина*

Артериальная гипертензия

Посттрансплантационный сахарный диабет

Дислипидемия

Гиперурикемия

**Глава 6.** Профилактика и лечение инфекционных осложнений у реципиентов солидных органов

*Е.И. Прокопенко, Я.Г. Мойсюк*

Периоперационная антибиотикопрофилактика

Инфекции, вызванные мультирезистентными грамотрицательными бактериями

Временная шкала развития инфекционных осложнений у пациентов после трансплантации органов

Псевдомембранозный колит

Грибковые инфекции

Цитомегаловирусная инфекция

Простой и опоясывающий герпес

Пневмоцистоз

Инфекции, вызванные вирусом Эпштейна–Барр, и посттрансплантационные лимфопролиферативные заболевания

Туберкулез

Инфекции мочевыводящих путей после трансплантации почки

Полиомавирусная инфекция после трансплантации почки

Вакцинация кандидатов на трансплантацию и реципиентов

**Глава 7.** Вирусные гепатиты В и С после трансплантации солидных органов

*В.Е. Сюткин*

Вирусные гепатиты после трансплантации печени

Вирусные гепатиты после трансплантации почки

**Приложения**

Приложение 1. Препараты, влияющие на концентрацию ингибиторов кальциневрина и ингибиторов mTOR

Приложение 2. Гематологическая токсичность иммунодепрессантов и других часто используемых препаратов

Приложение 3. Психоневрологические побочные эффекты препаратов, применяемых в трансплантологии

Приложение 4. Лекарственные взаимодействия антимикробных препаратов с иммунодепрессантами

Приложение 5. Рекомендуемые дозы некоторых антибактериальных и противогрибковых препаратов при почечной недостаточности

Приложение 6. Препараты, активные в отношении метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Приложение 7. Активность антибиотиков в отношении наиболее значимых возбудителей с учетом резистентности в России

Приложение 8. Торговые наименования антибактериальных, противогрибковых и противовирусных препаратов, применяемых в трансплантологии

Приложение 9. Торговые наименования препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений, назначаемых пациентам после трансплантации солидных органов

Приложение 10. Рекомендуемая литература

**Указатель лекарственных средств**





---

**V. ДИССЕРТАЦИИ  
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ  
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ  
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»,  
ЗАЩИЩЕННЫЕ В 2013 г.**

---

**ДИССЕРТАЦИИ  
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ  
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ  
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»  
ЗАЩИЩЕНЫ В 2013 г.  
В ДИССЕРТАЦИОННОМ СОВЕТЕ  
Д 208.055.01**

**при ФГБУ «Федеральный научный центр  
трансплантологии и искусственных органов  
имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России,  
приказ Председателя ВАК № 1925-1333 от 09.09.09**

- медицинские науки,**
- биологические науки.**

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

---

**АВТОРЕФЕРАТЫ ДИССЕРТАЦИЙ  
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ  
«ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ  
И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»,  
ЗАЩИЩЕННЫХ В 2013 г.**

---



---

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

---

**Строков Александр Григорьевич**

## **ПРОГРАММНЫЙ ГЕМОДИАЛИЗ: МОДИФИКАЦИЯ РЕЖИМОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ НАРУШЕНИЙ**

**14.01.24 – трансплантология и искусственные органы**

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

**Москва – 2013**

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

**Научный консультант:**  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Мойсюк Ян Геннадиевич**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность проблемы**

Программный гемодиализ с момента его внедрения в 1960 году остается основным методом заместительной почечной терапии. Почти 80% пациентов с терминальной почечной недостаточностью находятся на программном гемодиализном лечении; в России этот показатель составляет 71,6% [Томилина Н.А. с соавт., 2011]. Совершенствование методик гемодиализа за прошедшие десятилетия позволило существенно повысить качество и продолжительность жизни больных. В то же время основные показатели – заболеваемость и смертность – у пациентов на гемодиализе превышают таковые не только в общей популяции, но и у пациентов с функционирующим почечным трансплантатом [Андрусев А.М. с соавт., 2011]. Согласно данным Регистра Общества трансплантологов, в России производится 7,3 пересадки донорской почки на 1 миллион населения в

год [Готье С.В. с соавт., 2012]. Этот показатель пока существенно уступает величине годового прироста количества пациентов на заместительной терапии, поэтому оптимизация диализного лечения позволит не только улучшить результаты трансплантации, но и оказать реальное влияние на сроки жизни пациентов с хронической болезнью почек.

Основной причиной, определяющей высокую смертность среди пациентов на программном гемодиализе, является сердечно-сосудистая патология [Foley R.N. et al., 1998]. При этом если в общей популяции сердечно-сосудистая смертность определяется преимущественно атеросклерозом, инфарктами миокарда и инсультами, в популяции диализных пациентов основную роль играют совершенно другие механизмы. Это патологическая гипертрофия левого желудочка, кардиофиброз и нарушение эластичности крупных артериальных сосудов, развивающиеся под воздействием уремического окружения и хронического воспаления, хроническая сердечная недостаточность и нарушения ритма сердца.

В определенной степени выраженность сердечно-сосудистой патологии можно минимизировать путем расширения диализной программы: увеличением частоты проведения сеансов диализа и/или их продолжительности. Однако в рамках госпитального диализа подобное расширение программы диализа ведет к сокращению времени, свободного от лечения, и ограничивает возможности социальной, семейной и психологической реабилитации.

При проведении гемодиализа в рамках стандартной программы – три раза в неделю по 4 часа – необходимо обеспечить максимальную эффективность каждой процедуры как с точки зрения выведения уремических продуктов за счет диффузионного и фильтрационного переноса, так и для достижения состояния эволемии за счет ультрафильтрации. В оценке эффективности диализной программы, особенно у проблемных больных, немаловажна возможность мониторинга эффективности каждого сеанса гемодиализа.

При обработке состояния эволемии или «сухого веса» у пациентов на гемодиализе имеются три основные проблемы. Первая – объективизация величины сухого веса, то есть состояния умеренной последиализной дегидратации, которое было бы безопасным для больного. Вторая – определение той пороговой величины избыточной преддиализной гипергидратации, которая позволила бы избежать прогрессирования сердечно-сосудистой патологии, прежде всего гипертрофии левого желудочка и артериальной гипертензии. Третья – обеспечение бессимптомного, несмотря на высокие скорости кровотока и быструю ультрафильтрацию, течения сеанса гемодиализа. Основным осложнением процедуры гемодиализа является артериальная гипотензия, которая не только снижает эффективность лечения и осложняет психоэмоциональный статус пациента, но и является одной из причин прогрессирования недостаточности кровообращения [Burton J.O. et al, 2009].

Современные технологии программного гемодиализа предоставляют широкий спектр возможностей и для отслеживания определенных пара-

метров пациента в ходе процедуры, и для профилактики интрадиализных осложнений. Однако до сих пор в специальной литературе обсуждается вопрос: «Что такое новые возможности диализной аппаратуры – игрушки или полезные инструменты в руках клинициста»? [*Locatelli F. et al, 2005*]. Данная работа посвящена проблеме комплексного, индивидуализированного использования всех технологий программного диализа, в первую очередь с точки зрения профилактики и лечения сердечно-сосудистых осложнений, являющихся основными факторами заболеваемости и смертности у пациентов на программном гемодиализе.

## **Цель работы**

Клинико-технологическое обоснование системы мероприятий, направленных на профилактику и лечение сердечно-сосудистых осложнений у больных с хронической почечной недостаточностью в терминальной стадии, с комплексным применением инновационных методик гемодиализа.

## **Задачи работы**

1. Изучить закономерности ремоделирования сердечно-сосудистой системы под влиянием персистирующей гипергидратации у пациентов на программном гемодиализе.
2. Выявить механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы, направленные на компенсацию обеднения внутрисосудистого объема в ходе сеансов гемодиализа.
3. Оценить достоверность показателей аппаратных методов определения эффективности гемодиализа. Выявить основные причины недостаточной эффективности гемодиализа и разработать алгоритм мероприятий, направленных на ее устранение.
4. Оценить достоверность различных методов отработки сухого веса у пациентов на программном гемодиализе.
5. Изучить достоверность показателей и клиническую значимость аппаратных методов оценки относительных изменений объема крови в ходе сеансов гемодиализа.
6. Определить эффективность различных методов, направленных на поддержание постоянства внутрисосудистого объема в ходе сеансов гемодиализа.
7. Оценить влияние температурного баланса на частоту возникновения интрадиализной артериальной гипотензии.
8. Изучить влияние ацетатного иона диализирующей жидкости на частоту возникновения осложнений в ходе гемодиализа.
9. Разработать алгоритм отработки сухого веса и обеспечения стабильности гемодинамических показателей при проведении гемодиализа.



10. Изучить влияние расширения диализной программы на результаты лечения.

### **Положения, выносимые на защиту**

- Основным фактором, определяющим возникновение и прогрессирование гипертрофии миокарда левого желудочка у больных на программном гемодиализе, является персистирующая гипергидратация, поэтому динамика показателя индекса массы миокарда левого желудочка может использоваться как один из критериев достижения и поддержания состояния эуволемии.
- Комплексное применение современных методик и технологий программного гемодиализа позволяет объективизировать состояние эуволемии у пациентов на программном гемодиализе, ускорить достижение сухого веса, снизить частоту интрадиализной артериальной гипотензии и минимизировать величину междиализной гипергидратации.
- Для обеспечения адекватности диализного лечения требуется постоянный мониторинг эффективности сеансов лечения, который существенно облегчается и объективизируется при использовании аппаратных методов.
- Расширение стандартной диализной программы за счет привлечения фильтрационного (конвективного) компонента или увеличения частоты и/или продолжительности процедур позволяет снизить частоту интрадиализной симптоматики и оптимизировать адекватность диализной программы.

### **Научная новизна исследования**

В работе дана всеобъемлющая клиническая оценка современных технологий программного гемодиализа. Показана необходимость и эффективность комплексного подхода к использованию различных устройств, их показателей и функций. Продемонстрирована четкая взаимосвязь величины гипергидратации с выраженностью гипертрофии миокарда левого желудочка. Впервые при проведении сеансов гемодиализа в гамма-камере продемонстрирована значимость вклада левого предсердия для адекватного диастолического наполнения левого желудочка и поддержания стабильности гемодинамики в ходе гемодиализа с ультрафильтрацией. Впервые выявлено парадоксальное увеличение диаметра нижней полой вены на фоне ультрафильтрации у пациентов с вторичным гиперпаратиреозом, что может рассматриваться как один из механизмов развития интрадиализной гипотензии. Впервые в отечественной практике показана эффективность удаления ацетатного иона из состава диализирующей жидкости в плане профилактики интрадиализной гипотензии, а также возможность использования показателя проводимости плазмы для

оптимизации баланса натрия в ходе гемодиализа. При биоимпедансной спектрометрии впервые доказано закономерное увеличение внутриклеточного объема в конце гемодиализа. В работе сформированы алгоритмы мероприятий, направленных на профилактику и снижение выраженности основных сердечно-сосудистых осложнений, характерных для пациентов на программном гемодиализном лечении, а также на обеспечение эффективного и неосложненного течения сеансов гемодиализа. Показаны основные направления совершенствования программного диализного лечения с целью улучшения его результатов.

## **Практическое значение работы**

Полученные результаты будут полезны при разработке оптимальной диализной программы, прежде всего у проблемных пациентов, для обоснованного выбора и максимально эффективного применения в каждом конкретном случае всего арсенала современных методов программного гемодиализа с целью снижения частоты и выраженности осложнений как непосредственно в ходе сеансов лечения, так и сердечно-сосудистых осложнений, оказывающих существенное влияние на результаты программного гемодиализного лечения в целом. Кроме того, полученные данные могут оказаться бесполезны при разработке перспективных программ диализной помощи.

Разработанные алгоритмы и методики, а именно: алгоритм действий при недостаточной эффективности гемодиализа, алгоритм отработки сухого веса с применением биоимпедансного анализа и мониторинга относительного объема крови, алгоритм профилактики интрадиализной гипотензии, методика изонатриевого диализа для минимизации междиализной гипергидратации, позволили объективизировать состояние эуволемии у пациентов на программном гемодиализе, что облегчило коррекцию артериальной гипертензии и гипертрофии левого желудочка, достоверно снизить частоту интрадиализных осложнений, прежде всего артериальной гипотензии, повысить качество жизни больных.

## **Внедрение результатов исследования в практику**

Разработанные в результате проведенного исследования алгоритмы и рекомендации используются в практической работе следующих отделений:

- отделение гемодиализа и отделение интенсивной терапии ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава РФ – с 2008 года;
- отделение гемодиализа ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» Управления делами Президента РФ – с 2012 года;
- отделение диализа с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ имени Н.И. Пирогова» – с 2010 года;

- отделение амбулаторного гемодиализа ООО «Центр диализа», г. Москва – с 2012 года;
- отделение амбулаторного гемодиализа ФГБУ «НМЦХ имени Н.И. Пирогова, Санкт-Петербургский клинический комплекс» – с 2012 года.

Результаты исследования используются в учебно-методической работе кафедры трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова».

## **Апробация работы**

Основные положения и результаты исследования были представлены на следующих региональных, общероссийских и международных конференциях и съездах: Объединенная XI Северо-Западная нефрологическая школа-семинар «Актуальные вопросы нефрологии, диализа и трансплантации: доступно о сложном» (Светлогорск, 2012), VI Поволжская межрегиональная конференция Российского диализного общества «Актуальные вопросы нефрологии и заместительной терапии» (Оренбург, 2012), X Международная школа-семинар по нефрологии; VII конференция Российского диализного общества (Москва, 2011), X школа-семинар Регионального филиала Российского диализного общества Северо-Западного федерального округа «Актуальные проблемы хронической болезни почек» (Санкт-Петербург, 2011), Международная нефрологическая конференция «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2011, 2009, 2008, 2007, 2005), V Поволжская межрегиональная конференция Российского диализного общества (Казань, 2011), II Региональная конференция врачей отделений гемодиализа Северо-Западного федерального округа «Актуальные вопросы заместительной почечной терапии» (Сестрорецк, 2010), VII съезд Научного общества нефрологов России (Москва, 2010), Ежегодная научно-практическая конференция Центрального федерального округа Российской Федерации «Актуальные вопросы заместительной терапии, гемафереза и трансплантационной координации» (Москва, 2010), XVIII Санкт-Петербургский нефрологический семинар (2010), IX Международная школа-семинар по нефрологии «Неделя нефрологии в Москве–2010» (Москва, 2010), Межрегиональная научно-практическая конференция «Современные органозамещающие технологии в клинической практике» (Волгоград, 2010), Научно-практическая конференция Московского областного научно-практического общества детоксикации, диализа и нефрологии совместно с Московским обществом гемафереза «Актуальные вопросы гемафереза, хирургической гемокоррекции и диализа» (Москва, 2009), Научно-практическая конференция нефрологов Сибирского федерального округа «Нефрология, диализ и трансплантация в Сибири» (Новосибирск, 2009), VII Международный семинар «Неделя нефрологии

в Москве» (Москва, 2008), IV Всероссийский съезд трансплантологов (Москва, 2008), VIII Российско-Французская школа-семинар «Актуальные проблемы нефрологии» (Москва, Липки, 2007), Научно-практическая конференция нефрологов Сибирского федерального округа «Актуальные проблемы болезней почек и хроническая почечная недостаточность» (Томск, 2007), IV, V конференции Российского диализного общества (Санкт-Петербург, 2005, Москва, 2007), а также на XXXIV, XXXVI и XXXIX конгрессах Европейской ассоциации диализа и трансплантации.

## **Связь с планом научно-исследовательских работ и отраслевыми программами**

Исследования проводились в рамках утвержденной темы «Основные направления совершенствования методов аппаратной заместительной почечной терапии», регистрационный номер НИОКР 0120.0804128, начало – 04.2008 г., окончание – 12.2012 г.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 37 печатных работ, из них 20 статей в рецензируемых журналах, включенных в Перечень ВАК Минобрнауки РФ.

## **Объем и структура работы**

Диссертационная работа состоит из **введения, 6 глав**, первая из которых содержит обзор литературы, вторая посвящена описанию пациентов и методов исследования, а четыре главы, разбитые на девять разделов, содержат описание результатов исследования; **заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы**, содержащего 361 источник, 66 из которых – отечественные. Диссертация изложена на 272 страницах машинописного текста, иллюстрирована 50 рисунками и 14 таблицами.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Пациенты и методы исследования**

Исследование проводилось на базе отделения гемодиализа ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова». В исследовании на разных его этапах приняли участие в общей сложности 385 пациентов, находящихся на лечении программным гемодиализом (табл. 1); а также 28 здоровых субъектов с нормальной функцией почек, которым проводился биоимпеданс-

ный анализ. На всех этапах участники исследования информировались о целях и способах проведения исследования и о возможных осложнениях, связанных с ним. Все пациенты принимали участие в исследовании осознанно и добровольно.

Таблица 1

**Характеристика пациентов, принявших участие  
в исследовании**

Всего пациентов	Женщин/мужчин	Возраст (лет)	Стаж диализа (мес.)
385	189/196	10–76 (ср. 39,7)	0–308 (ср. 42,2)
Причина развития ХБП	Диагноз первичного заболевания		Частота (%)
	Хронический гломерулонефрит		58,7
	Сахарный диабет		8,1
	Поликистоз почек		9,6
	Аномалия развития мочевой системы		7,8
	Хронический пиелонефрит		8,3
	Прочие		7,5

Как видно из таблицы, средний возраст пациентов был несколько ниже в сравнении с показателем в общей популяции пациентов на программном гемодиализе в России (49,0 года). Несколько меньшим было и количество пациентов с сахарным диабетом – в целом по России процентное соотношение таких пациентов составляет 12,3%. Такие отличия могут объясняться спецификой учреждения, поскольку практически все пациенты на программный гемодиализ поступали с целью подготовки к трансплантации почки.

*Диаметр нижней полой вены и параметры левого желудочка* определяли с помощью ультразвукового аппарата Combuson («Mitsubishi», Япония) из парастернального доступа датчиком с частотой 2,25 МГц. Параметры левого желудочка рассчитывали по формуле, предложенной *Devereux R.B. с соавт.* в 1994 г. Массу миокарда левого желудочка определяли по формуле, предложенной Американским эхокардиографическим обществом в 1999 г. Полученные данные соотносили с площадью поверхности тела для определения индекса массы левого желудочка.

*Для изучения динамики показателей внутрисердечной гемодинамики на фоне ультрафильтрации* в ходе сеансов гемодиализа, которые проводились непосредственно в гамма-камере, было осуществлено 36 исследований радиоизотопной вентрикулографии с технецием-99. Исследования проводились перед подключением пациента к системе гемодиализа и на последнем часе сеанса лечения. Определялись фракция выброса, наполнение за 1/3 диастолы, вклад предсердия, конечный диастолический объем, конечный систолический объем, ударный объем левого и правого желудочков сердца.

*Для определения эффективности процедуры гемодиализа по величине ионного диализанса* использовался «On-line clearance monitor» (ОСМ), инкорпорированный в аппараты 4008 и 5008 (Fresenius Medical Care, ФРГ).

*Для определения показателя относительного объема крови* использовались блок «Blood volume monitor» (BVM), инкорпорированный в аппараты 4008 и 5008 (Fresenius Medical Care, ФРГ) и автономное устройство «Crit-line» (In-Line Diagnostics Corporation, США).

*При исследовании биоимпедансного анализа* для оценки статуса гидратации применялись биоимпедансный анализатор «Медас» (РФ) с использованием четырех электродов, расположенных на руке и ноге с одной стороны и измерением на трех частотах переменного тока, а также устройство для биоимпедансной спектрометрии BSM («Body Composition Monitor», Fresenius Medical Care, ФРГ) с частотой измерения от 5 до 1000 кГц.

*При исследовании влияния температурного баланса в ходе гемодиализа на частоту интрадиализной гипотензии* использовался монитор температуры крови Blood Temperature Monitor (BTM) в составе аппаратов для гемодиализа 4008 и 5008 (Fresenius Medical Care, ФРГ).

*При изучении влияния безацетатной биофильтрации (БАБ)* на клинические результаты применялась оригинальная методика проведения процедур с замещением изотоничным раствором бикарбоната натрия.

*Субъективная оценка качества жизни* проводилась на анонимной основе с использованием стандартных опросников «SF-36 Health Survey», а также расширенных опросников для пациентов на гемодиализе «Kidney Disease Quality of Life – Short Form (KDQOL-SF™)», переведенных на русский язык.

*Статистическая обработка* данных проводилась с использованием электронных таблиц «Excel» и программы «Statistic for Windows 6.0». Средние величины представлены в виде  $M \pm \sigma$ . Достоверность различий средних и относительных величин вычислялась по коэффициенту *Student* с 95% интервалом конфидентности, а также при помощи дисперсного анализа. Для анализа корреляций использовался показатель *Pearson*, для непараметрических данных – показатель *Spearman*. Сравнительная частота развития осложнений при использовании различных модальностей диализа оценивалась по величинам относительного риска (RR) и относительных шансов наступления события (OR).

## Результаты исследования

### *Гипергидратация, артериальная гипертензия и гипертрофия левого желудочка*

*При отработке сухого веса* у 68 пациентов (37 женщин и 31 мужчины в возрасте от 19 до 62 лет, в среднем 36,4 года), поступавших для

подготовки к пересадке почки с выраженной гипергидратацией, объем которой составлял от 5 до 14,5 (в среднем  $- 7,6 \pm 2,1$ ) литра, отмечался значимый регресс показателей АД: со  $174 \pm 5 / 96 \pm 3$  до  $128 \pm 4$  ( $p < 0,01$ ) /  $74 \pm 2$  ( $p < 0,05$ ) мм рт. ст. При этом у 40 пациентов артериальная гипертензия персистировала в течение 5–14 дней после достижения сухого веса. Данные УЗИ левого желудочка у этих пациентов приведены в таблице 2. Характерно, что фракция изгнания левого желудочка после достижения пациентами сухого веса не изменилась ( $61,6 \pm 2,4\%$  исходно и  $61,5 \pm 1,0\%$  после устранения гипергидратации), при этом существенно, со  $113,9 \pm 6,5$  до  $75,9 \pm 7,2$  мл снизился ударный объем, что свидетельствует об устранении дилатации полости левого желудочка при достижении нормоволемии. Наряду со снижением частоты сердечных сокращений это приводило к значительному снижению среднего показателя минутного объема крови – с  $9233,8 \pm 359,8$  до  $5373,5 \pm 260,0$  мл.

Таблица 2

**Параметры левого желудочка при отработке сухого веса**

Показатель	Исходное значение	После дегидратации
Минутный объем (мл)	$9233,8 \pm 359,8$	$5373,5 \pm 260,0^*$
Частота сердечных сокращений в мин.	$81,4 \pm 7,4$	$71,0 \pm 5,7^*$
Ударный объем (мл)	$113,9 \pm 6,5$	$75,9 \pm 7,2^*$
Фракция изгнания (%)	$61,6 \pm 2,4$	$61,5 \pm 1,0$
Индекс массы ( $г/м^2$ )	$221,6 \pm 11,6$	$148,8 \pm 9,5^*$

Примечание. \* –  $p < 0,05$  в сравнении с исходным значением

Столь значимое снижение объемной нагрузки проявилось существенным обратным развитием гипертрофии левого желудочка: индекс массы левого желудочка, в начале лечения существенно превышавший нормальные значения и в среднем составлявший  $221,6 \pm 11,6$   $г/м^2$ , снизился после устранения гипергидратации до  $148,8 \pm 9,5$   $г/м^2$ .

**При динамическом наблюдении** 67 пациентов (39 женщин и 28 мужчин в возрасте от 21 года до 64 лет, в среднем 32,4 года) со стабильной диализной программой при 36-месячном наблюдении были выявлены 32 пациента, у которых отмечалось снижение индекса массы левого желудочка: в среднем с  $206,2 \pm 16,3$  до  $109,1 \pm 11,2$   $г/м^2$  ( $p < 0,001$ ). Минимальный срок наблюдения при этом составлял семь месяцев. Основной отличительной особенностью этих пациентов являлась умеренная прибавка в весе между сеансами гемодиализа, которая практически никогда не превышала 3,8% сухого веса пациента, а в абсолютных величинах – 3 килограммов. Увеличение индекса массы левого желудочка отмечалось

у остальных 35 пациентов, у которых этот показатель в процессе наблюдения вырос со  $126,6 \pm 15,4$  до  $193,7 \pm 12,1$  г/м<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ). Отличительной особенностью этих пациентов была более существенная междиализная прибавка в весе, которая как минимум один раз в неделю превышала 3 килограмма. В этой подгруппе пациентов, склонных к нарушению диетических ограничений, касающихся потребления жидкости, была отмечена четкая корреляция междиализной прибавки в весе и индекса массы левого желудочка ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,05$ ). Концентрическая гипертрофия левого желудочка с увеличением толщины межжелудочковой перегородки, снижением объема полости и фракции выброса отмечалась лишь у двух пациентов с выраженным вторичным гиперпаратиреозом.

### ***Параметры внутрисердечной гемодинамики на фоне ультрафильтрации***

**Радиоизотопная вентрикулография с технецием-99** проводилась непосредственно в гамма-камере у 36 диализных пациентов (17 мужчин и 19 женщин в возрасте от 19 до 54 лет, в среднем 36,1 года; длительность диализного лечения – от 6 до 165 месяцев, в среднем 75,4 месяца). Исследования проводились перед подключением пациента к системе гемодиализа и на последнем часе сеанса лечения. Междиализная прибавка в весе составляла от 2,1 до 4,5 кг; в среднем  $2,9 \pm 0,5$  кг, соответственно, объем ультрафильтрации за процедуру равнялся 2,2–4,6 л, в среднем –  $3,0 \pm 0,5$  л.

Было показано, что для поддержания эффективной гемодинамики на фоне массивной ультрафильтрации важную роль играет активная фаза диастолического наполнения левого желудочка. Если в начале сеанса гемодиализа вклад предсердия в среднем составлял  $12,6 \pm 4,8$ ; то на последнем часе лечения он увеличивался до  $30,8 \pm 9,4\%$  ( $p < 0,01$ ). Корреляция величины предсердного вклада и ударного объема левого желудочка оказалась весьма значимой и достоверной ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,001$ ). Именно у пациентов с незначительным возрастанием предсердного вклада отмечалось значимо более частое развитие интрадиализной гипотензии (OR = 8). Фаза пассивного наполнения влияла на ударный объем левого желудочка не столь существенно. Коэффициент корреляции между наполнением за первую треть диастолы и ударным объемом составил 0,21. Фракция изгнания левого желудочка в ходе сеанса лечения существенно не изменялась, в начале процедуры она в среднем составляла  $70,9 \pm 12,4$ ; на последнем часе –  $68,4 \pm 10,7$  мл (NS). На фоне устранения гиперволемии закономерно снижался ударный объем – с  $94,6 \pm 18,1$  до  $82,4 \pm 19,6$  мл и, соответственно, минутный объем левого желудочка – с  $7620 \pm 1230$  до  $6810 \pm 1126$  мл ( $p < 0,05$ ).

Применительно к правым отделам сердца зависимость оказалась прямо противоположной. Роль правого предсердия в активном наполнении



правого желудочка была значительно меньшей, чем в левых отделах сердца. Коэффициент парной корреляции между вкладом правого предсердия и фракцией выброса правого желудочка составил 0,24. А вот роль пассивной фазы наполнения была существенно выше. Коэффициент парной корреляции между ударным объемом и наполнением за первую треть диастолы составил 0,69.

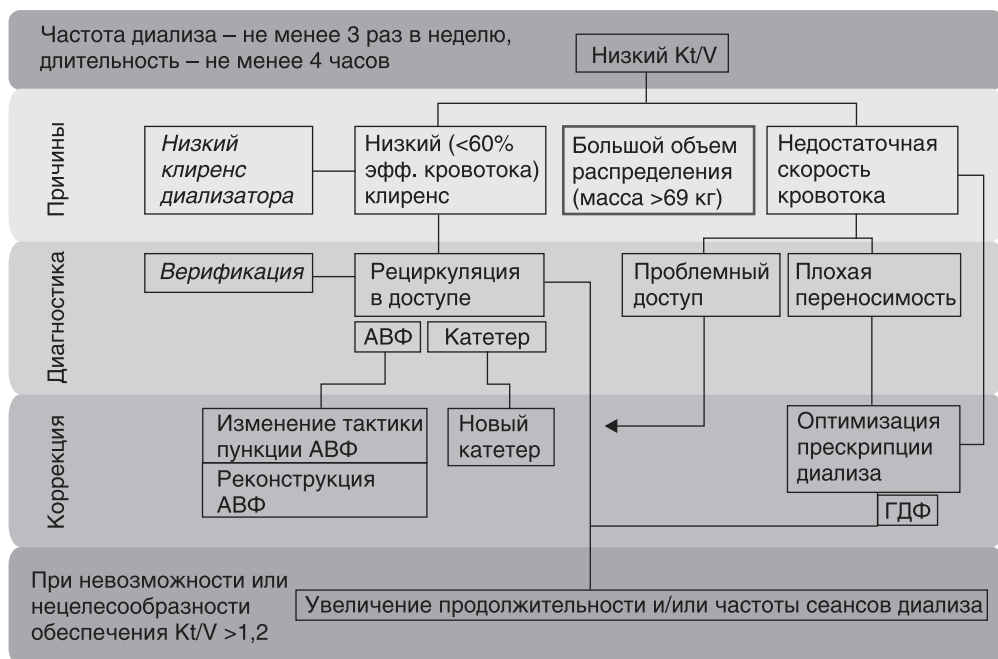
*При оценке эффективности сеанса гемодиализа по величине ионного диализанса* была показана высокая корреляция показателей  $Kt/V$  – определенного традиционным способом по пробам крови и рассчитанным модулем в ходе диализа ( $r = 0,94$ ;  $p < 0,001$ ). При этом  $Kt/V$  по ионному диализансу был ниже в подавляющем большинстве случаев (в среднем на  $0,70 \pm 0,04$ ) и превышал показатель, определенный традиционным способом, лишь при объеме ультрафильтрации более 6% сухого веса пациента.

При длительном мониторинге эффективности диализа было отмечено, что до четверти сеансов гемодиализа у пациентов с отработанной программой могут оказаться недостаточно эффективными в связи с вариабельностью показателя  $Kt/V$  от процедуры к процедуре. Практически у всех пациентов с массой тела  $>69$  кг регистрировались сеансы лечения с недостаточной эффективностью. Причиной такой вариабельности являлась рециркуляция в сосудистом доступе. По нашим данным, величина ионного клиренса, не превышающая 60% эффективной скорости кровотока, явно свидетельствует о значимой рециркуляции.

При исследовании зависимости показателя клиренса от гематокрита можно было проследить определенное закономерное снижение показателей клиренсов при повышении уровня гематокрита. Это подтверждается и статистически, коэффициент парной корреляции для показателей клиренса и гематокрита  $r$  составил  $-0,4$ ;  $p < 0,05$ . Однако при удалении из области анализа крайних значений (менее 28% и более 38%) зависимость перестает быть значимой. Поэтому при обычных уровнях гематокрита, рекомендуемых для диализных пациентов, воздействие на эффективность диализа, очевидно, незначительно. В любом случае оно менее значимо, чем, например, влияние рециркуляции в сосудистом доступе.

По результатам проведенного исследования был сформирован алгоритм обеспечения эффективности сеансов гемодиализа (рис. 1).

Регулярное определение показателя становится повсеместной рутинной практикой, что способствует повышению эффективности диализной терапии. В качестве иллюстрации можно привести сравнение средних показателей  $Kt/V$ , полученных при моделировании диализа по анамнестическим данным, у пациентов, поступавших в наш Центр для пересадки почки в 2005 и 2010 гг. ( $1,07 \pm 0,02$  vs  $1,16 \pm 0,03$ ;  $p < 0,01$ ).



**Рис. 1. Алгоритм мероприятий, направленных на обеспечение эффективности сеансов гемодиализа**

**Показатель проводимости плазмы**, который можно отследить при работе блока определения ионного диализанса, применялся для минимизации нагрузки пациента натрием в ходе сеанса гемодиализа. После первого цикла измерения ионного диализанса, который предполагает изначально выравнивание проводимости диализирующей жидкости и плазмы пациента, пропорция смешивания концентрата изменялась таким образом, чтобы обеспечить равенство проводимости диализата и плазмы. Минимально допустимая концентрация натрия в диализирующей жидкости при этом равнялась 132 ммоль/л. Кроме того, если принять во внимание воздействие ионов калия, кальция и магния на проводимость плазмы, то концентрация натрия в диализате всегда оказывалась выше, чем в плазме, на 2–4 ммоль/л.

Изонатриевый диализ использовался у двенадцати пациентов, отличавшихся склонностью к массивной междиализной прибавке в весе (1 и более диализов за неделю с ультрафильтрацией свыше 4,5% «сухой массы» тела), 4 женщин и 8 мужчин в возрасте 27–56 лет с диализным стажем от 1,5 до 26 лет. В течение трехнедельного наблюдения было отмечено, что предиализная концентрация натрия действительно является стабильным индивидуальным показателем, не претерпевающим заметных изменений от диализа к диализу. При устранении градиента по натрию между плаз-

мой и диализирующей жидкостью показатель предиализной концентрации натрия в группе пациентов также не изменился и составил  $133,4 \pm 2,3$  ммоль/л. В то же время при проведении изонатриевых диализов был отмечен существенно менее выраженный прирост плазменной концентрации натрия в ходе диализа. Если при стандартном проведении диализа, при котором концентрация натрия в диализирующей жидкости составляла 138–142 ммоль/л, отмечалось достоверное увеличение плазменной концентрации натрия: со  $133,5 \pm 2,4$  до  $138,6 \pm 2,5$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), то при изонатриевом диализе такого роста не отмечалось:  $133,4 \pm 2,3$  и  $134,1 \pm 2,2$  ммоль/л (NS).

Одновременно с этим отмечалась достоверно менее значительная междуализная прибавка в весе у пациентов исследуемой группы. Если при проведении диализа с использованием стандартных концентраций натрия междуализная прибавка в весе составляла  $3,81 \pm 1,08$  кг, то при изонатриевом диализе она снизилась до  $3,23 \pm 0,92$  кг ( $p < 0,001$ ). В процентном выражении это составляло  $5,15 \pm 1,32$  % при стандартном диализе и  $4,36 \pm 0,97$  % при изонатриевом диализе ( $p < 0,01$ ). Следует отметить, что значительное снижение величины междуализной прибавки в весе отмечалось у пациентов с невысокой предиализной концентрацией натрия, то есть в ситуации, когда градиент натрия между плазмой и диализатом при стандартном проведении диализа максимален. Показатель корреляции между величиной устраняемого градиента натрия и снижением междуализной прибавки в весе  $r = 0,52$  при  $p = 0,042$ . Снижение последиализной концентрации натрия на 4 ммоль/л позволило снизить междуализную прибавку в весе почти на 600 мл, то есть именно на расчетные 150 мл на 1 ммоль/л избыточной концентрации натрия в объеме внеклеточного пространства. В этой связи можно предположить, что экспансия натрия и воды у пациентов на программном гемодиализе в междуализные промежутки затрагивает именно внеклеточное пространство, и при создании моделей баланса натрия вполне возможно оперировать однокамерной моделью распределения.

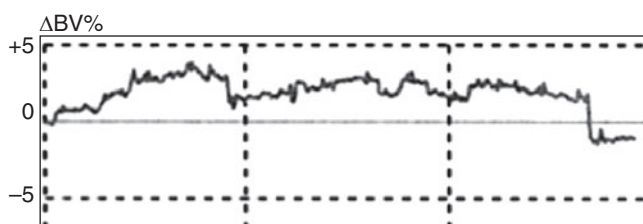
### *Методы объективизации величины сухого веса*

*Диаметр нижней полой вены* у 25 больных, находящихся на программном диализе (14 женщин и 11 мужчин в возрасте от 19 до 67, в среднем – 36,2 года, длительность диализного лечения – от 2 до 176, в среднем – 75,8 месяца) с предиализной гипергидратацией 1,4–4,7 кг, в среднем –  $2,65 \pm 0,15$  кг или  $4,43 \pm 0,24$  % сухого веса) ни у одного из пациентов не превышал нормы, а именно 2,5 см, и в среднем составил  $1,71 \pm 0,07$  см. На фоне ультрафильтрации в ходе гемодиализа отмечалось достоверное снижение диаметра нижней полой вены с  $1,71 \pm 0,07$  см до  $1,51 \pm 0,06$  см ( $p < 0,05$ ). Однако заметной корреляции между объемом

ультрафильтрации и степенью снижения показателя выявлено не было ( $r = 0,187$ ).

Нами впервые был отмечен феномен увеличения диаметра нижней полой вены в ходе диализа у ряда пациентов, единственным отличием которых был высокий уровень паратиреоидного гормона (ПТГ), у всех больных в данной подгруппе превысивший 330 пг/мл. При выделении этих пациентов в отдельную группу было отмечено и достоверное снижение среднего артериального давления в ходе диализов: с  $95,87 \pm 8,68$  до  $86,5 \pm 9,55$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ). Частота эпизодов гипотензии, требующей вмешательства персонала, у этих пациентов также была достоверно выше, относительный риск интрадиализной гипотензии RR составил 2,4 ( $p < 0,05$ ). В то же время ни у одного больного с уровнем ПТГ менее 330 пг/мл не отмечалось увеличения диаметра нижней полой вены во время диализа. Очевидно, данный механизм нарушения сократимости венозной системы при вторичном гиперпаратиреозе может являться одним из звеньев патогенеза артериальной гипотензии на фоне ультрафильтрации.

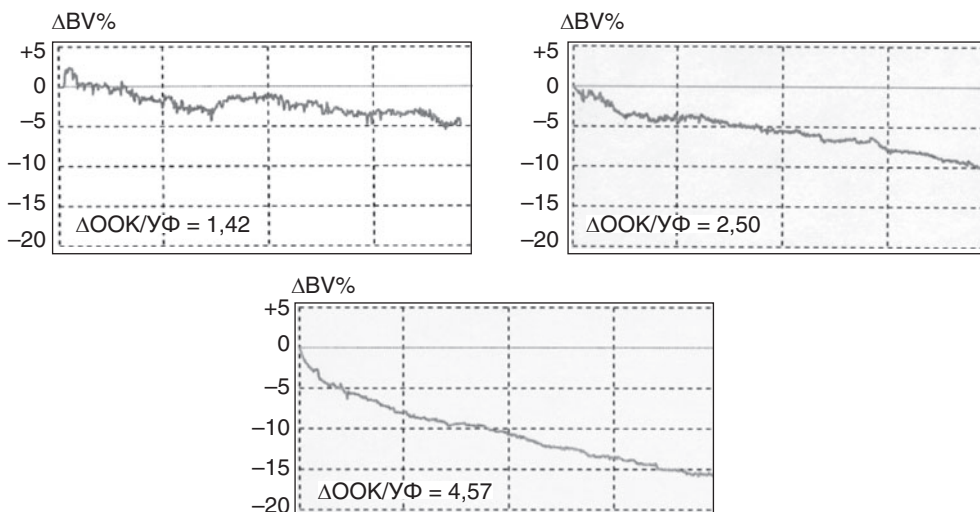
**Динамика относительного объема крови (ООК)** в ходе сеансов гемодиализа позволяла оценить статус гидратации пациентов. У 21 пациента с выраженной гипергидратацией была отмечена монотонность кривой снижения ООК в ходе сеанса гемодиализа и незначительные величины максимального снижения ООК. У некоторых пациентов отмечалось парадоксальное повышение ООК в ходе процедуры (рис. 2), что мы связывали с исходной гипонатриемией – нередким явлением у перегруженных жидкостью пациентов на гемодиализе.



**Рис. 2. Парадоксальное увеличение относительного объема крови на фоне ультрафильтрации у пациента с выраженной гипергидратацией**

Отношение максимального снижения ООК в процентах к объему ультрафильтрации в литрах ( $\Delta OOK/УФ$ ) не превышал 2,5 ни в одном из случаев. Для сравнения отметим, что у пациентов с отработанной сухой массой этот показатель никогда не был менее 2,6 и в абсолютном большинстве случаев превышал 3,3. При снижении массы тела, то есть по

мере приближения пациента к состоянию нормогидратации, увеличивалось максимальное снижение ООК, а коэффициент  $\Delta\text{ООК}/\text{УФ}$  у всех пациентов становился выше 3,5, что иллюстрирует рис. 3.



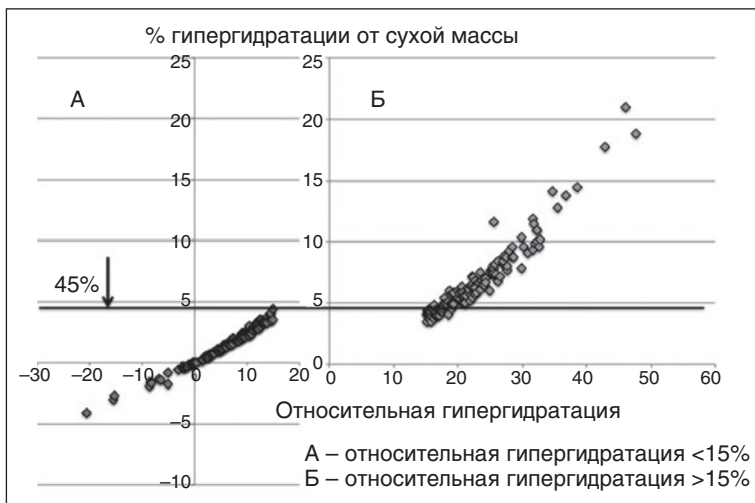
**Рис. 3. Увеличение максимального падения ООК и показателя  $\Delta\text{ООК}/\text{УФ}$  в ходе трех сеансов диализа при отработке сухого веса у пациента с гипергидратацией**

**Биоимпедансная спектрометрия** проводилась у 28 здоровых субъектов и 176 пациентов, находящихся на диализном лечении, в ряде случаев – неоднократно. При сравнении данных здоровых субъектов и диализных пациентов были отмечены несколько меньшие показатели веса и индекса массы тела у последних. При этом количество общей воды организма (ОВО) и внеклеточной жидкости (ВКЖ) у пациентов на гемодиализе было достоверно выше ( $p < 0,01$ ), что, очевидно, служило проявлением преддиализной гипергидратации. Характерно, что количество клеточной жидкости (КЖ) у здоровых субъектов и у пациентов на диализе было в среднем одинаковым. Это наблюдение подтверждает общепринятое на сегодняшний день мнение о внеклеточном характере гипергидратации у пациентов на диализном лечении. Соотношение ВКЖ/КЖ у здоровых субъектов составляло в среднем  $0,80 \pm 0,04$ ; а у диализных пациентов было достоверно выше:  $0,96 \pm 0,13$  ( $p < 0,001$ ) и нередко превышало единицу.

Величина преддиализной гипергидратации в общей группе диализных пациентов колебалась в чрезвычайно широких пределах: от  $-2,3$  л у пациента с недооцененным сухим весом до 16 л у пациента с выраженной гипергидратацией, соответственно среднее значение составило  $2,77 \pm 2,03$  л. При этом относительная гипергидратация (ОГ), то есть соотноше-

ние объема гипергидратации к объему ВЖ составляла в среднем  $14,7 \pm 10,3\%$ .

Показатель ОГ может оказаться весьма полезным в клинической практике. На сегодняшний день стандарты диализного лечения предполагают соотнесение величины предиализной гипергидратации к массе тела и рекомендуют ограничивать междиализную прибавку  $4,5\%$  сухого веса пациента. Вероятно, соотношение междиализной прибавки и объема ВКЖ более точно отражает предиализную перегрузку жидкостью.

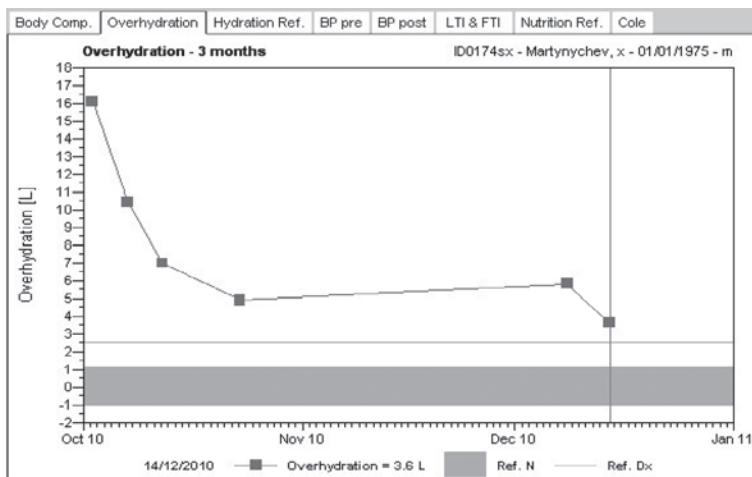


**Рис. 4. Зависимость величины относительной гипергидратации и стандартного показателя – гипергидратации в процентах сухого веса**

На рис. 4 представлена зависимость величины междиализной гипергидратации, выраженной в % сухой массы тела и ОГ (% ВКЖ). Как видно из графиков, величина ОГ менее 15% (слева) гарантирует попадание пациента в допустимые по стандартной величине –  $4,5\%$  сухой массы – рамки междиализной гипергидратации. Напротив, в достаточно большом количестве случаев соблюдение этого стандартного требования не гарантирует, что величина ОГ не превысит 15% (справа).

При наличии выраженной гипергидратации при вводе пациентов в стабильную диализную программу биоимпедансная спектрометрия оказывалась очень полезной, поскольку позволяла оценить весь массив избыточной жидкости еще в дебюте лечения (рис. 5). Такая информация существенно облегчала более быстрое достижение состояния эуволемии. При этом большую помощь оказывал мониторинг относительного объема крови в ходе сеанса диализа, алгоритм применения которого был описан выше.

Применение мониторинга относительного объема крови позволяет не только избежать интрадиализной гипотензии в ситуации, когда скорость ультрафильтрации превышает обычные значения, но и исключить отрицательное влияние внутрисосудистой гиповолемии на функции миокарда.

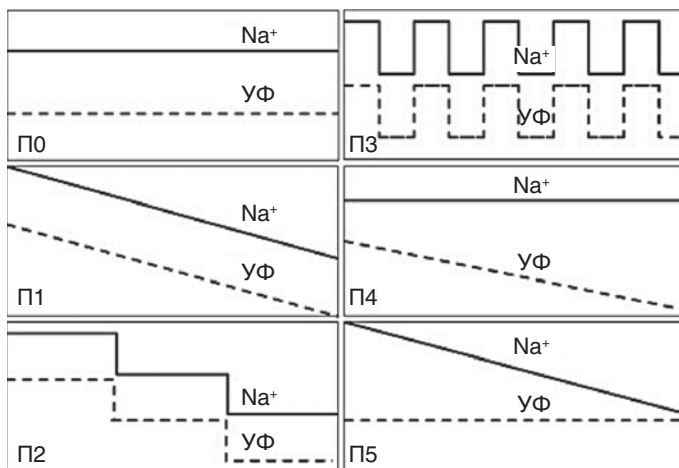


**Рис. 5. Динамика уровня преддиализной гипергидратации в течение 2,5 месяца при подготовке пациента к трансплантации почки**

Изменения величин тощей и жировой массы при динамическом наблюдении у 8 пациентов, которым биоимпедансная спектрометрия проводилась на всем протяжении использования методики в нашем Центре – около 3 с половиной лет, при отдельных измерениях не всегда бывали объяснимы. При этом индивидуальные колебания величины тощей массы в некоторых измерениях были достаточно значимыми и достигали 7,5% сухой массы тела пациента или 12% тощей массы. Тем не менее при серийных измерениях общая тенденция изменения параметров состава тела у наших длительно наблюдавшихся пациентов оказалась вполне закономерной. У всех 8 пациентов наблюдалось приращение тощей массы в среднем на  $2,4 \pm 0,7\%$ ; что может рассматриваться как проявление полноценности белкового питания и адекватности диализной программы. В то же время показатель жировой массы у 5 из восьми пациентов за время наблюдения снижался в среднем на  $3,1 \pm 0,5\%$ . Подобное наблюдение может служить проявлением недостаточной энергетической полноценности диеты. Однако нельзя исключить и влияние закономерных сезонных колебаний массы тела, поскольку начало применения методики в нашем Центре происходило в феврале, а анализ базы данных производился в августе. Возможность мониторировать параметры состава тела в значительной степени способна облегчить оценку белково-энергетической адекватности питания.

### Профилактика интрадиализной гипотензии

**Профилирование натрия диализата и скорости ультрафильтрации** рассматривается как основная мера пресервации внутрисосудистого объема на фоне ультрафильтрации. Мы изучили закономерности изменений ООК у 32 пациентов (17 мужчин и 15 женщин в возрасте от 21 года до 64 лет, в среднем – 35 лет) с отработанным сухим весом, длительно (от 16 до 273 месяцев) находящихся на программном гемодиализе при различных вариантах профилирования, представленных на рис. 6. Показатель максимального снижения ООК для стандартного гемодиализа (П0) в среднем составил  $15,1 \pm 2,7\%$ . Показатель  $\Delta\text{ООК}/\text{УФ}$ , соотносящий максимальное за процедуру снижение ООК к объему ультрафильтрации, при стандартном диализе составил  $5,4 \pm 1,6\%/л$ . При применении профилирования сколь либо существенных изменений этого показателя добиться не удалось, напротив, при П1–П3 имелась тенденция к более глубокому снижению ООК (табл. 3). Несколько меньшие показатели были получены при изолированном профилировании УФ и натрия (П4, П5).



**Рис. 6. Варианты профилирования концентрации иона натрия в диализате и скорости ультрафильтрации, применявшиеся в исследовании**

При дисперсном анализе было отмечено, что величины  $F$ , полученные при сравнении показателей  $\Delta\text{ООК}/\text{УФ}$  для профилей П4 и П5 (изолированное профилирование УФ и натрия) с показателями, полученными при стандартном диализе (П0), превышают критические значения, характерные для 95% достоверности различий. Таким образом, отдельное друг от друга профилирование УФ или концентрации натрия (П4 и П5) позволяло незначительно снизить максимальное падение ООК в ходе сеансов гемодиализа. Одновременное же профилирование натрия и ультрафильтрации



(П1) не только не снижало степени падения ООК, но и придавало этому показателю тенденцию к увеличению.

Таблица 3

**Максимальное снижение относительного объема крови  
при различных вариантах профилирования натрия диализата  
и ультрафильтрации**

Профиль	Объем УФ (мл)	Макс. снижение ООК (%)	$\Delta$ ООК/УФ (%/л)
П0	2993 $\pm$ 826	15,1 $\pm$ 2,7	5,4 $\pm$ 1,6
П1	3024 $\pm$ 862	16,6 $\pm$ 3,4 *	6,0 $\pm$ 1,7 *
П2	2804 $\pm$ 780	15,0 $\pm$ 2,5 *	5,8 $\pm$ 2,1 *
П3	2994 $\pm$ 897	16,5 $\pm$ 2,8 *	6,0 $\pm$ 1,5 *
П4	2745 $\pm$ 829	13,6 $\pm$ 3,2 *	4,8 $\pm$ 1,3 **
П5	2835 $\pm$ 857	12,6 $\pm$ 3,6 *	4,5 $\pm$ 1,8 ***

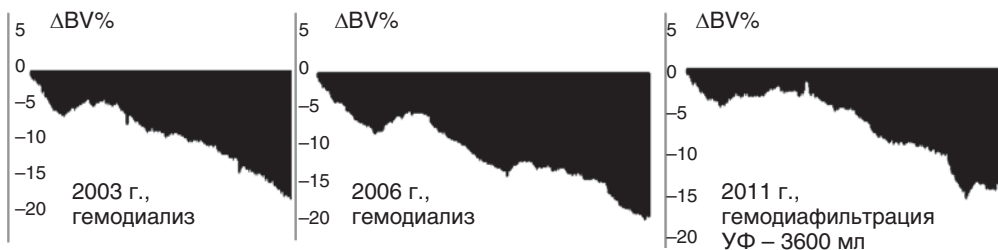
*Примечание.* \* – различия в сравнении с П0 недостоверны; \*\*  $p < 0,05$  в сравнении с П0; \*\*\*  $p < 0,05$  в сравнении с П0; различия в сравнении с П4 недостоверны.

**Анализ кривых изменений относительного объема крови** в последующем позволил выявить следующие закономерности. При выделении сеансов гемодиализа, осложненных гипотензией, в отдельную группу, было отмечено более выраженное максимальное снижение показателя ООК в сравнении с остальными сеансами:  $19,6 \pm 3,8\%$  против  $14,8 \pm 3,2\%$  ( $p < 0,05$ ). Максимальное снижение ООК в течение первых 40 минут гемодиализа было также достоверно выше у пациентов со склонностью к гипотензии в ходе процедуры:  $8,72 \pm 0,86\%$  против  $5,86 \pm 1,02\%$  ( $p < 0,05$ ). Быстрое падение ООК в начале диализа явилось прогностическим признаком развития гипотензии в последующие часы гемодиализа. Коэффициент *Spearman* для этого показателя в отношении связи с интрадиализной артериальной гипотензией  $R = 0,79$  ( $p = 0,00022$ ). Другими значимыми факторами риска развития интрадиализной артериальной гипотензии явилась монотонность кривой падения ООК ( $R = 0,81$ ;  $p = 0,0001$ ) и величина  $\Delta$ ООК/УФ свыше  $6,0\%/л$  ( $R = 0,77$ ;  $p = 0,0001$ ). Очевидно, подобное монотонное, значимое падение ООК являлось проявлением недостаточной мобилизации механизмов сосудистого восполнения в ответ на ультрафильтрацию. Показатель  $\Delta$ ООК/УФ превышал  $6\%$  на 1 литр у 11 пациентов и в ряде случаев достигал  $12\%$  на 1 литр, при том что объем УФ не превышал таковой у остальных пациентов ( $2895 \pm 716$  мл против  $2993 \pm 827$  мл). Такие пациенты, у которых скорость сосудистого восполнения существенно отставала от скорости УФ, были особенно чувствительны к быстрой УФ, что проявлялось большей частотой эпизодов гипотензии (17 на 38 сеансов), чем в группе пациентов с показателем  $\Delta$ ООК/УФ менее  $6\%$  на 1 литр УФ, где частота эпизодов гипотензии составила 16 на 174 сеанса диализа. Можно предположить, что у та-

ких пациентов обеднение внутрисосудистого объема является основным механизмом возникновения интрадиализной гипотензии.

Изолированная ультрафильтрация не позволяла снизить скорость падения ООК. Очевидно, присущая этой процедуре гемодинамическая стабильность объясняется охлаждающим воздействием в отсутствие потока диализата. Введение в ходе сеанса гемодиализа гипертонического (40%) раствора глюкозы позволяло повысить величину ООК в среднем на  $4,2 \pm 0,6\%$  ( $n = 59$ ). Эффект сохранялся в течение 20–40 минут, в среднем 31 мин. Введение 10% и 20% раствора альбумина, как правило, не приводило к повышению ООК, но позволяло снизить скорость его падения, при этом показатель  $\Delta\text{ООК}/\text{УФ}$  после введения альбумина снижался в среднем на  $1,9 \pm 0,7\%$  на 1 литр ( $n = 16$ ).

Величина снижения ООК и характер кривой этого снижения в ходе процедуры у стабильных пациентов на программном лечении не менялись в течение многих лет (рис. 7).



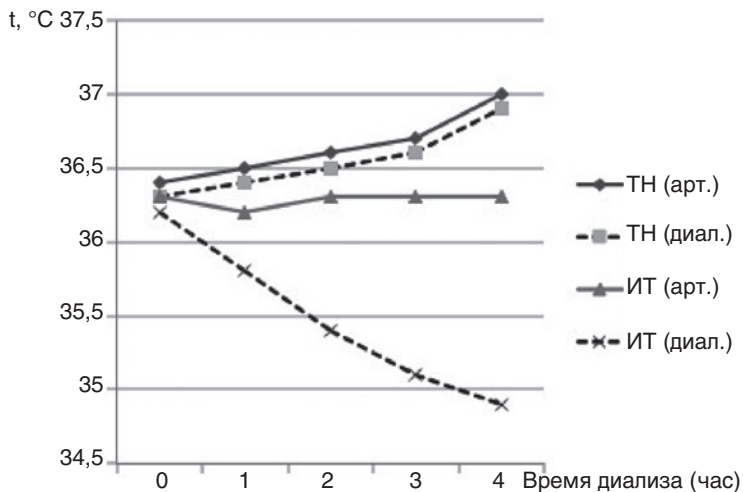
**Рис. 7.** Динамика относительного объема крови у пациентки Д. в течение 9 лет наблюдения

Таким образом, правильно отработанная программа проведения гемодиализа может применяться без существенных изменений в течение длительных промежутков времени.

*При изучении влияния термального баланса на частоту интрадиализной гипотензии* 24 стабильным диализным пациентам, 15 мужчинам и 9 женщинам в возрасте от 23 до 56 лет (в среднем 42,4 года), проводились стандартные, низкотемпературные, термонеутральные (равенство температуры на входе и выходе экстракорпорального контура) и изотермические (поддержание постоянства температуры на входе в экстракорпоральный контур) сеансы лечения. При проведении диализа со стандартной температурой диализата, сопоставимой с нормальной температурой тела, отмечалось прогрессивное повышение температуры крови, поступающей в экстракорпоральный контур: с  $36,3 \pm 0,4$  до  $37,1 \pm 0,3$  °C ( $p < 0,01$ ). При низкотемпературном диализе это повышение было также достоверным, но менее выраженным: с  $36,2 \pm 0,3$  до  $36,5 \pm 0,3$  °C ( $p < 0,05$ ). Проведение диализа в термонеутральном режиме также не поз-

воляло избежать повышения температуры тела пациента, в среднем оно составило  $0,6 \pm 0,4$  °С.

Для обеспечения постоянства температуры тела в ходе сеанса гемодиализа в изотермическом режиме требовалось постоянное понижение температуры диализирующей жидкости (рис. 8). В ряде случаев в конце процедуры температура диализирующей жидкости была ниже 35 °С и в среднем составила  $34,9 \pm 0,2$  °С. Таким образом, было показано, что даже низкотемпературный диализ не всегда позволяет избежать повышения температуры тела, и у пациентов со склонностью к интрадиализной гипотензии оптимальным является проведение диализа в изотемпературном режиме. В клинической практике у 19 пациентов, отличавшихся склонностью к интрадиализной гипотензии, применение изотемпературного диализа позволило снизить частоту этого осложнения до  $11,3 \pm 4,6\%$ , что вполне сопоставимо с данными в общей популяции наших диализных пациентов.



**Рис. 8.** Динамика температуры крови на входе в экстракорпоральный контур (арт.) и диализирующей жидкости (диал.) при проведении гемодиализов в термонейтральном (ТН) и изотемпературном (ИТ) режимах

При использовании современных диализных технологий основным механизмом повышения температуры считается связанное с периферической вазоконстрикцией снижение теплообмена между поверхностью тела и окружающей средой. В нашем исследовании это предположение также подтвердилось. При анализе зависимости величины повышения температуры крови, поступающей в экстракорпоральный контур и величины ультрафильтрации в ходе 36 сеансов гемодиализа, проводившихся

в термонейтральном режиме у 24 пациентов, была отмечена высокая корреляционная зависимость этих показателей ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ).

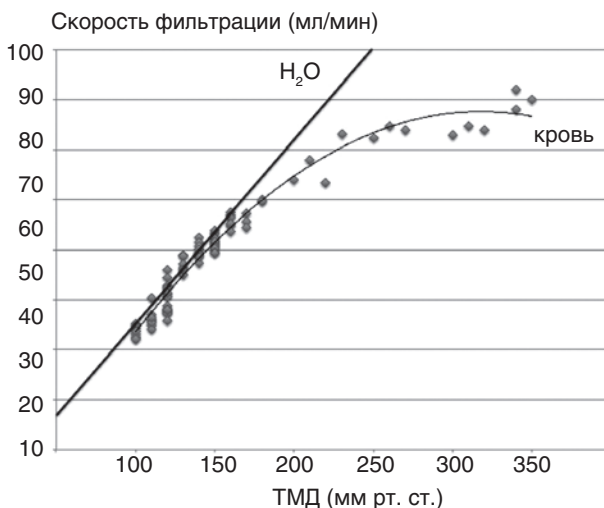
**Для исключения ацетатного иона из состава диализирующей жидкости** мы применяли безацетатную биофильтрацию (БАБ) по оригинальной методике у 8 пациентов, 3 женщин и 5 мужчин в возрасте от 28 до 54 (в среднем 33) лет, находящихся на лечении программным гемодиализом от 2,2 до 14 лет. Скорость введения 1,35% раствора бикарбоната натрия составляла в среднем  $1,96 \pm 0,12$  л/ч и колебалась у разных пациентов от 1,5 до 2,1 л/ч, или 25–35 мл/мин. В ходе полугодового наблюдения отмечалось повышение Kt/V: при проведении БАБ показатель в среднем составил  $1,32 \pm 0,07$  в сравнении с  $1,17 \pm 0,06$  для бикарбонатного гемодиализа ( $p < 0,001$ ). Данное наблюдение связано, очевидно, с привлечением конвекционного компонента очищения. Отмечалась более адекватная коррекция ацидоза: на фоне лечения бикарбонатным диализом средний показатель предиализной концентрации бикарбоната в крови пациентов составлял  $20,5 \pm 1,3$  ммоль/л, после перевода пациентов на БАБ отмечалось увеличение этого показателя до  $22,4 \pm 2,1$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Определенной неожиданностью явилось отмеченное за период наблюдения увеличение среднего показателя концентрации фосфата в ходе наблюдения с  $1,87 \pm 0,44$  до  $2,11 \pm 0,26$  ммоль/л. Такое наблюдение может объясняться затруднением выхода фосфата из внутриклеточного пространства при быстрой коррекции ацидоза.

Частота интрадиализной гипотензии снизилась практически вдвое, с 16,3 до 8,8% ( $p < 0,01$ ). Было также отмечено снижение частоты судорог в икроножных мышцах с 7,5 до 4,2% ( $p < 0,05$ ). В междиализный период отмечалось снижение частоты ощущения разбитости после процедуры с 33,0 до 19,7% ( $p < 0,05$ ). При оценке качества жизни отмечалось улучшение показателей физической активности, социального и эмоционального функционирования, а также психического здоровья.

### **Расширение программы гемодиализа**

**Для изучения результатов привлечения конвекционного (фильтрационного) компонента очищения** на результаты лечения после перевода с бикарбонатного гемодиализа на гемодиализацию on-line (о-ГДФ) наблюдались 24 пациента, 13 женщин и 9 мужчин в возрасте от 28 до 72 (в среднем 42,6) лет, с диализным стажем не менее 39 месяцев. Данная группа пациентов была переведена с бикарбонатного гемодиализа на о-ГДФ одномоментно, после инсталляции новой диализной аппаратуры. Кроме того, в анализ были включены данные 19 пациентов (9 женщин и 10 мужчин в возрасте от 19 до 52 лет), поступавших в центр для подготовки к трансплантации почки, у которых срок наблюдения после перевода на о-ГДФ составил не менее 6 месяцев.

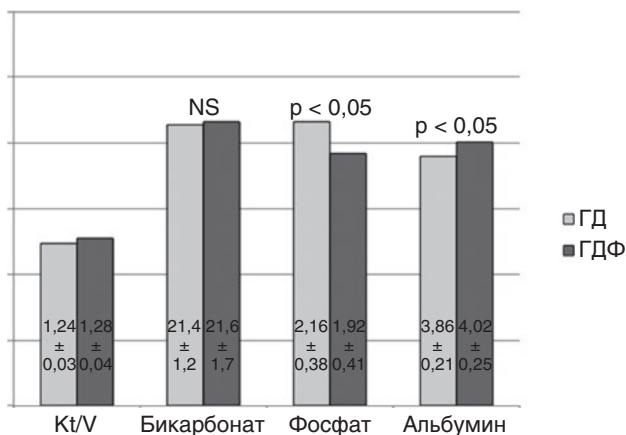
В подавляющем большинстве случаев о-ГДФ проводилась в режиме постдилюции, в такой ситуации основной детерминантой, определяющей скорость фильтрации, являлась объемная скорость кровотока (рис. 9).



**Рис. 9. Зависимость скорости фильтрации от трансмембранного давления для воды (в стендовых испытаниях) и крови (в клинических условиях, при скорости кровотока 320–350 мл/мин)**

Как видно из графика, в отличие от водных растворов, скорость фильтрации которых линейно возрастает при увеличении трансмембранного давления, при фильтрации жидкой фракции крови линейный рост скорости фильтрации наблюдается до уровня трансмембранного давления около 200–250 мм рт. ст. Такая зависимость, очевидно, связана с образованием на поверхности диализной мембраны вторичной «биологической» мембраны. Активный поток растворителя увлекает к поверхности синтетической диализной мембраны молекулы плазменного белка и форменные элементы крови, и чем более активно производится фильтрация, тем более плотной становится вторичная биологическая мембрана, препятствующая дальнейшему увеличению скорости фильтрации. Поэтому в клинической практике скорость фильтрации отрабатывалась по показателю трансмембранного давления, которое поддерживалось в диапазоне 200–250 мм рт. ст. Фракция фильтрации при этом редко превышала 30% и в среднем составляла  $24,2 \pm 8,6\%$ . Различия в величине фракции фильтрации определялись уровнем гемоглобина у конкретного пациента. Преддилюционная гемодиализация использовалась лишь в отдельных случаях при ограниченной скорости кровотока, что было связано с техническими проблемами сосудистого доступа, а также у ряда пациентов с острым повреждением почек, получавших ежедневное лечение. Кро-

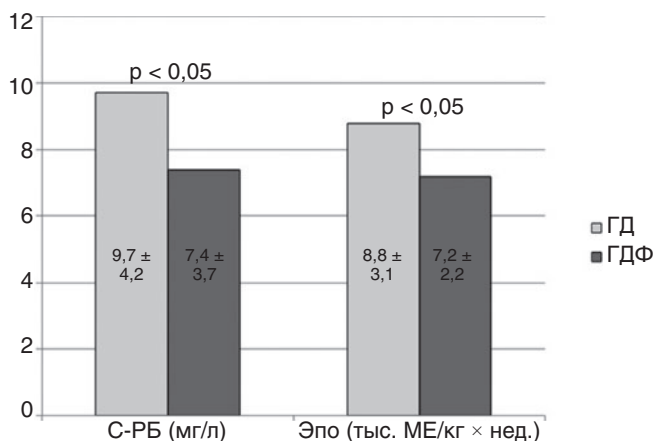
ме того, у трех пациентов в течение определенного времени преддилюционное замещение использовалось в связи с передозировкой эритропоз-стимулирующих препаратов и высокими уровнями гемоглобина (более 130 г/л), ограничивающими скорость фильтрации. В ряде случаев также производилось переключение с постдилюционного способа замещения на преддилюционное непосредственно в ходе процедуры. Такую методику применяли в случаях массивной ультрафильтрации, когда существенная гемоконцентрация на последних 1–1,5 часах процедуры препятствовала адекватной фильтрации жидкой фракции крови, что проявлялось ростом трансмембранного давления свыше 250–300 мм рт. ст.



**Рис. 10.** Динамика показателей Kt/V, бикарбоната, фосфатемии и концентрации альбумина после перевода пациентов на лечение гемодиализацией

В нашем наблюдении средний показатель объема замещения за 4-часовую процедуру составил  $15,2 \pm 3,1$  л. При использовании о-ГДФ было отмечено достоверное увеличение показателя Kt/V с  $1,24 \pm 0,03$  до  $1,28 \pm 0,04$ ;  $p < 0,05$  (рис. 10). Кроме того, при анализе лабораторных показателей было отмечено достоверное снижение уровня фосфатемии с  $2,16 \pm 0,38$  до  $1,92 \pm 0,41$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ). Снижение фосфатемии можно объяснить привлечением конвективного компонента очищения, поскольку существенных изменений кислотно-основного состояния при использовании о-ГДФ не отмечалось, средний показатель бикарбоната плазмы после процедуры составил  $21,6 \pm 1,7$  в сравнении с  $21,4 \pm 1,2$  для гемодиализа (NS). Снижение уровня фосфатемии не может быть связано и со снижением потребления белка пациентами, так как за время наблюдения отмечалось достоверное увеличение концентрации альбумина – с  $3,86 \pm 0,21$  до  $4,02 \pm 0,25$  г/дл ( $p < 0,05$ ). В определенной степени это может объясняться и снижением выраженности проявлений хронического воспале-

ния, которое отмечалось после перевода пациентов на лечение о-ГДФ. Как видно из рис. 11, концентрация С-реактивного белка снизилась при этом с  $9,7 \pm 4,2$  до  $7,4 \pm 3,7$  мг/л ( $p < 0,05$ ).



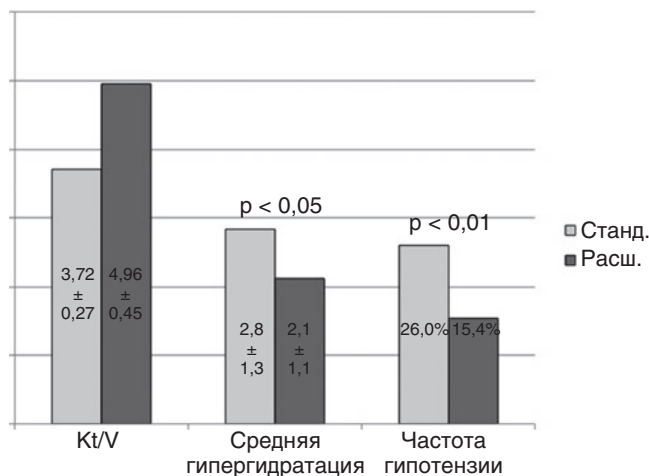
**Рис. 11. Динамика С-реактивного белка и потребности в эритропоз-стимулирующих препаратах после перевода на лечение гемодиализацией**

Очевидно, что и снижение потребности в эритропоз-стимулирующих препаратах также может быть объяснено уменьшением проявлений системного хронического воспаления. У наших пациентов средние дозы рекомбинантного человеческого эритропоетина снизились после перевода на лечение гемодиализацией с  $8,8 \pm 3,1$  до  $7,2 \pm 2,2$  тыс. МЕ на килограмм массы тела ( $p < 0,05$ ). При этом средний уровень гемоглобина в наблюдаемой группе пациентов не изменился и составил  $109,4 \pm 15,6$  г/л в сравнении со  $105,2 \pm 12,7$  г/л при лечении бикарбонатным гемодиализом (NS).

При лечении о-ГДФ отмечалось снижение частоты и выраженности интра- и междиализной симптоматики. Так, частота интрадиализной гипотензии снизилась непосредственно после перевода пациентов на о-ГДФ и составила 11,8% в сравнении с 17,8% ( $p < 0,05$ ). Столь же значительно было и снижение частоты мышечных судорог во время сеанса лечения: с 8,5 до 5,3% ( $p < 0,05$ ). В междиализные промежутки отмечалось снижение частоты жалоб на слабость (с 13,2 до 8,3%;  $p < 0,05$ ) и плохой аппетит (с 9,8 до 4,6%;  $p < 0,05$ ). При оценке качества жизни отмечалось достоверное улучшение показателей физической активности и социального функционирования. Весьма характерно при этом, что физическая активность и социальное функционирование улучшались на фоне неизменных показателей оценки общего здоровья и витальности. В то же время показатели эмоционального функционирования и психического здоровья оценивались достоверно выше. Можно предположить, что в первую очередь на показатель качества

жизни в данной ситуации оказывало влияние снижение выраженности депрессии. Насколько это связано с непосредственными результатами лечения и насколько является определенным авансом со стороны пациентов в адрес нового метода лечения, покажут дальнейшие исследования.

Увеличение частоты сеансов лечения позволило снизить частоту интрадиализной гипотензии у пациентов на программном гемодиализном лечении, склонных к этому осложнению (рис. 12).



**Рис. 12. Недельный Kt/V, средний показатель гипергидратации и частота интрадиализной гипотензии при трехразовом диализе (станд.) и после увеличения частоты сеансов до 4–5**

Снижение частоты интрадиализной гипотензии отмечалось одновременно с уменьшением величины средней за неделю междиализной гипергидратации. Очевидно, именно снижение скорости ультрафильтрации при этом являлось основным фактором, определяющим меньшую частоту интрадиализной симптоматики. Увеличение частоты сеансов лечения до 4–6 за неделю широко использовалось при отработке диализной в плане подготовки к трансплантации почки, в периоперационном периоде при хирургических вмешательствах, например, при билатеральной нефрэктомии, протезировании клапанов сердца, коронарной ангиопластике. Также подобный режим лечения использовался у пациентов с отсроченной функцией трансплантата после пересадки почки и у больных с острым повреждением почек. При наличии резерва диализных мест расширение режима лечения у пациентов, находящихся в стационаре, проблем не вызывало. Однако в рамках амбулаторного гемодиализа, когда сеанс лечения, учитывая затраты времени на дорогу, занимает практически весь день, значимое уменьшение свободного от лечения времени снижает качество жизни диализных пациентов. Поэтому у пациентов на амбулаторном гемодиализе





относительного объема крови и объем ультрафильтрации ( $\Delta\text{ООК/УФ}$ ), не превышающее 2,5% на 1 литр ультрафильтрации, *несомненно* свидетельствует о гипергидратации.

- Обычно показатель  $\Delta\text{ООК/УФ}$  у пациентов с отработанным сухим весом находится в пределах 3,5–6 %/л. При более высоком показателе стоит уточнить величину сухого веса, чтобы исключить избыточную ультрафильтрацию.
- В зависимости от характера кривой изменения относительного объема крови можно при наличии интрадиализной гипотензии применить профилирование натрия и ультрафильтрации. Так, у пациентов с быстрым падением объема крови в первые 40 минут диализа может оказаться полезным понижающийся профиль натрия в диализате; если же наблюдается монотонность кривой с показателем  $\Delta\text{ООК/УФ} > 6\%/л$ , может быть применено профилирование ультрафильтрации.
- У пациентов со значительным снижением относительного объема крови (более 6%/1 литр ультрафильтрации) и отработанным сухим весом необходимо предпринять меры для ограничения междиализной прибавки в весе: пересмотреть диету с целью ограничения потребления хлорида натрия и *индивидуализировать содержание натрия в диализате* с целью минимизации интрадиализной нагрузки натрием. При этом можно пользоваться показателем проводимости плазмы при наличии блока ионного диализанса.
- Рассматривая величину междиализной гипергидратации, оптимальным представляется ее соотнесение с *объемом внеклеточной жидкости* по данным биоимпедансного анализа. При этом гипергидратация не должна превышать 15% внеклеточной жидкости. Данный показатель представляется более достоверным в сравнении с традиционным, соотносящим величину междиализной гипергидратации и сухой вес пациента.
- Вне зависимости от величины абсолютных и относительных показателей междиализной гипергидратации, в случаях нарастания в динамике *индекса массы миокарда левого желудочка* показано уточнение сухого веса пациента и применение мер, направленных на минимизацию междиализной прибавки в весе.
- Мерой первого порядка для профилактики интрадиализной гипотензии нам представляется *низкотемпературный диализ*. Поскольку даже при таком диализе отмечается повышение температуры тела к окончанию процедуры, у пациентов с резистентной интрадиализной гипотензией при возможности необходимо использовать *изотермический диализ*, позволяющий на всем протяжении сеанса лечения поддерживать адекватное периферическое сопротивление.
- В любом случае, вне зависимости от течения сеансов лечения, показано использование *гемодиоафильтрации* как более эффективной в сравнении с гемодиализом процедуры. У пациентов со склонностью к интра-

диализной гипотензии, проблемных больных применение такой методики оправдано вдвойне. При этом использование всех дополнительных функций столь же эффективно, как и при лечении гемодиализом.

- При наличии сердечной недостаточности, проявляющейся низкой фракцией изгнания левого желудочка, а также при резистентной интрадиализной гипотензии по исчерпанию всех перечисленных возможностей обеспечения стабильного течения процедур показано увеличение числа сеансов лечения. У пациентов, находящихся в стационаре, при вводе в диализную программу частый гемодиализ при наличии диализных мест может рассматриваться как мера первого порядка.

## ВЫВОДЫ

1. Сердечно-сосудистые нарушения, являющиеся неотъемлемой и характерной особенностью пациентов, находящихся на программном лечении гемодиализом, возможно корректировать путем изменения режимов и индивидуализации проведения гемодиализа.
2. Основным фактором, определяющим ремоделирование сердечно-сосудистой системы в виде гипертрофии миокарда левого желудочка у пациентов на программном гемодиализе, является гипергидратация, поэтому показатель массы миокарда может использоваться для индивидуализации оценки статуса гидратации: увеличение показателя в динамике свидетельствует о необходимости уточнения величины сухого веса и минимизации междиализной гипергидратации.
3. По данным радиоизотопной вентрикулографии, основным фактором поддержания адекватного сердечного выброса на фоне ультрафильтрации в ходе сеанса лечения является увеличение предсердного вклада в наполнение левого желудочка.
4. Определение дозы диализа по величине ионного диализанса является достоверным методом оценки эффективности лечения. Вследствие вариабельности дозы диализа от сеанса к сеансу показано рутинное использование аппаратных методов оценки дозы диализа, это особо значимо для пациентов с массой тела свыше 69 кг.
5. Показатель проводимости плазмы может использоваться для оптимизации баланса натрия у пациентов на программном гемодиализе, в том числе для минимизации междиализной гипергидратации.
6. Величина диаметра полых вен при ультразвуковом исследовании не является достоверным показателем гипергидратации или адекватности ультрафильтрации. У пациентов с вторичным гиперпаратиреозом и концентрацией паратиреоидного гормона выше 330 пг/мл на фоне ультрафильтрации отмечается парадоксальное увеличение диаметра нижней полой вены.

7. Монотонность кривой снижения относительного объема крови в сочетании с незначительной величиной падения относительного объема крови, не превышающая 2,5% на 1 литр ультрафильтрации, являются достоверными признаками гипергидратации.
8. Биоимпедансный анализ является достоверным методом оценки состояния гидратации у пациентов на программном гемодиализе и может использоваться для определения динамики тощей и жировой массы. Содружественное применение биоимпедансной спектрометрии и мониторинга относительного объема крови позволяет объективизировать величину сухого веса пациента и ускорить его обработку.
9. Гипергидратация, превышающая 15% объема внеклеточной жидкости, определенного при биоимпедансной спектрометрии, приводит к прогрессированию гипертрофии левого желудочка и артериальной гипертензии. Показатель относительной гипергидратации является более достоверным в сравнении со стандартным, в котором величина преддиализной гипергидратации соотносится с сухим весом пациента.
10. При отслеживании изменений относительного объема крови в ходе сеанса гемодиализа основными факторами риска развития интрадиализной гипотензии являются линейность кривой относительного объема крови и значительное его снижение, превышающее 6% на 1 литр ультрафильтрации. Мониторинг изменений относительного объема крови в ходе сеансов гемодиализа позволяет оценить действенность методов, направленных на поддержание его постоянства. При использовании профилирования сопоставимые результаты, а именно снижение максимального падения относительного объема крови на 1,5–2,5%, показаны при изолированном профилировании скорости ультрафильтрации или концентрации натрия.
11. Проведение гемодиализа в изотермическом режиме позволяет достоверно снизить частоту интрадиализной гипотензии в 2,5 раза. Исключение ацетатного иона из состава диализирующей жидкости при использовании безацетатной биофильтрации позволяет снизить частоту интрадиализной гипотензии в 2 раза и существенно улучшить переносимость процедуры.
12. Использование гемодиофильтрации в качестве стандартной методики позволяет увеличить эффективность лечения, снизить частоту осложнений, в том числе интрадиализной гипотензии, в 1,5 раза, улучшить статус питания и качество жизни пациентов на программном гемодиализе. У пациентов с высокой частотой интрадиализной гипотензии при неэффективности методов, направленных на ее профилактику, показано увеличение числа сеансов лечения в неделю.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Показатель индекса массы левого желудочка может рассматриваться в качестве критерия достижения эуволемии, при нарастании показателя требуется уточнение величины сухого веса и применение мероприятий, направленных на минимизацию междиализной гипергидратации.
- Соотношение величин междиализной прибавки в весе и внеклеточного объема является более достоверным критерием гипергидратации, чем отношение междиализной прибавки в весе и сухой массы пациента. При этом отношение междиализной гипергидратации и объема внеклеточной жидкости не должно превышать 15%. Данный показатель может быть индивидуализирован в зависимости от динамики индекса массы левого желудочка.
- Мониторинг относительного объема крови позволяет объективизировать достижение пациентом сухого веса. Снижение относительного объема крови менее чем на 2,5% на каждый литр ультрафильтрации определенно свидетельствует о состоянии гипергидратации.
- Обычно максимальное снижение относительного объема крови у пациентов с отработанным сухим весом находится в пределах 3,5–6% на 1 литр ультрафильтрации. Пациенты с более высоким показателем склонны к развитию интрадиализной гипотензии, и в таких случаях особенно полезны меры, направленные на пресервацию внутрисосудистого объема на фоне ультрафильтрации. Это также касается пациентов, у которых наблюдается линейное снижение относительного объема крови; у таких больных дефицит внутрисосудистого объема является основной причиной интрадиализной гипотензии.
- Профилирование натрия или ультрафильтрации позволяет снизить максимальное падение относительного объема крови на 2–3%. Введение гипертонического раствора глюкозы позволяет увеличить внутрисосудистый объем на 20–30 минут. Введение раствора альбумина позволяет замедлить падение внутрисосудистого объема. Применение таких мероприятий показано в первую очередь у пациентов со значительным (более 6% на 1 литр ультрафильтрации) падением относительного объема крови.
- При вводе в диализную программу у пациентов с массивной гипергидратацией, определенной биоимпедансным анализом, применение мониторинга относительного объема крови показано с целью обеспечения безопасного проведения сеансов лечения на фоне массивной ультрафильтрации.
- У пациентов с междиализной гипергидратацией, превышающей 15% объема внеклеточной жидкости, необходимо пересмотреть прескрипцию диализа в отношении концентрации натрия в диализате для исключения высокого градиента, чреватого перегрузкой пациента натрием в

ходе диализа. При этом можно пользоваться показателем проводимости плазмы по данным блока мониторинга ионного диализанса.

- Для профилактики интрадиализной гипотензии мерой первого порядка является низкотемпературный гемодиализ. Поскольку даже при низкотемпературном диализе отмечается повышение температуры тела пациента на фоне периферической вазоконстрикции, оптимальным вариантом является изотемпературный диализ, требующий применения специального температурного блока.
- Для обеспечения стабильной эффективности лечения показан ее мониторинг аппаратными методами, например, определение  $Kt/V$  по ионному диализансу. Это особо значимо у пациентов с массой тела свыше 69 кг, у которых из-за вариабельности показателя ряд сеансов лечения может оказываться неэффективным.
- Основной причиной снижения показателя  $Kt/V$  при достаточной эффективной скорости кровотока является рециркуляция в сосудистом доступе. Величина клиренса, не превышающая 60% эффективной скорости кровотока, уже на первых минутах сеанса лечения позволяет выявить наличие рециркуляции. Верификация величины рециркуляции возможна с использованием температурного блока.
- Гемодиализация on-line является оптимальным методом программного диализа, позволяющим повысить эффективность лечения, снизить выраженность интра- и междиализной симптоматики, повысить качество жизни пациентов.
- При использовании постдилюционной гемодиализации критерием адекватности скорости фильтрации может служить показатель трансмембранного давления, который необходимо поддерживать в пределах 200–250 мм рт. ст. Преддилюционное замещение может использоваться у пациентов с высоким уровнем гемоглобина или в конце процедуры, на фоне значимой гемоконцентрации.
- При невозможности обеспечения адекватной эффективности сеансов лечения и/или исчерпанию всех возможностей коррекции интрадиализных осложнений, в первую очередь интрадиализной гипотензии, показано увеличение частоты сеансов. У пациентов, находящихся на амбулаторном лечении, данная мера должна рассматриваться как последняя из возможных, поскольку сокращение свободного от лечения времени снижает качество жизни.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Строков А.Г.* Искусственная почка. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 1994. – Т. 1, № 1. – С. 60–62.
2. *Kotov M.V., Baeva L.B., Strokov A.G.* Paired filtration-dialysis, acetate free bio-filtration, bicarbonate dialysis for treatment patients after kidney transplantation. XXXIV Congress of ERA-EDTA. Geneva. – 1997. – P. 148.

3. *Строков А.Г.* Конвективные методы лечения. Сборник материалов Международного нефрологического симпозиума «Современные аспекты заместительной терапии при почечной недостаточности». – М., 1998. – С. 59–64.
4. *Котов М.В., Строков А.Г., Поз Я.Л. и др.* Схема одновременного проведения безацетатной биофльтрации двум пациентам. *Мед. техника.* – 1998. – 3. – С. 33–34.
5. *Strokov A.G., Poz J.L.* Acetate-free biofiltration as a mode of home treatment. XXXVI Congress of ERA-EDTA. Madrid. – 1999. – P. 213.
6. *Строков А.Г.* Домашний диализ – одно из перспективных направлений совершенствования диализной программы. Труды Международной конференции по биомедицинскому приборостроению. – М., 2000. – Т. 2. – С. 122–124.
7. *Гаврилин В.А., Строков А.Г.* Диаметр нижней полой вены у пациентов на гемодиализе как критерий оценки степени гидратации. *Нефрология и диализ.* – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 67–69.
8. *Строков А.Г.* «Избранные лекции». *Нефрология и диализ.* Электронный сборник (CD). 2002.
9. *Гаврилин В.А., Строков А.Г., Ермоленко А.Е. и др.* Механизмы и факторы, влияющие на центральную гемодинамику у диализных пациентов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 77–79.
10. *Poz J.L., Strokov A.G.* «Kt/V measurement based on ionic dialysance by Fresenius OCM» XXXIX Congress of ERA-EDTA. Kobenhavn. 2002.
11. Руководство по диализу / Под ред. Д. Даугирдас, П. Блейк, Т. Инг. – Тверь, 2003. – 742 с. – научный перевод.
12. *Басиладзе И.В., Поз Я.Л., Строков А.Г.* Достоверность определения показателя Kt/V по ионному диализансу в ходе диализа. *Нефрология и диализ.* – 2003. – Т. 5. – С. 141–144.
13. *Басиладзе И.В., Строков А.Г.* Показатель дозы диализа Kt/V и аппаратные методы его определения. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 53–62.
14. *Басиладзе И.В., Поз Я.Л., Строков А.Г.* Определение показателя Kt/V по ионному диализансу в практике программного гемодиализа. *Нефрология.* – 2004. – 8. Приложение 2. – С. 175.
15. Европейские рекомендации по оптимальной практике гемодиализа. *Нефрология и диализ.* – 2005. Приложение 1. – 112 с. – научный перевод.
16. *Гаврилин В.А., Строков А.Г., Ермоленко А.Е., Остроумов Е.Н.* Внутрисердечная гемодинамика у пациентов в условиях относительной гиперволемии и активной дегидратации. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 66–67.
17. *Гаврилин В.А., Строков А.Г., Ермоленко А.Е., Остроумов Е.Н., Ильницкий В.В.* Гипергидратация и сердечно-сосудистая система у пациентов на гемодиализе. *Вестник Российской академии медицинских наук.* – 2006. – Т. 11. – С. 41–45.

18. **Строков А.Г., Баранова Ф.С., Ким И.Г. и др.** Комплемент-фиксирующие антитела к ВК-вирусу у реципиентов аллотрансплантатов почки. *Нефрология*. – 2007. – № 2. – С. 177–180.
19. **Шумаков В.И., Строков А.Г., Попцов В.Н., Поз Я.Л., Копылова Ю.В.** Эффективность различных методов заместительной терапии у больных после операций с искусственным кровообращением. *Бюллетень НЦССХ имени А.Н. Бакулева*. – 2007. – Т. 8, № 6. – С. 226.
20. **Гаврилин В.А., Остроумов Е.Н., Ермоленко А.Е., Строков А.Г.** Механизмы адаптации сердечно-сосудистой системы у диализных пациентов. Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов. – М., 2008.
21. **Строков А.Г.** Новые возможности коррекции кальций-фосфорного обмена. Лекция. Электронное издание Российского диализного общества. – М., 2009.
22. **Гаврилин В.А., Строков А.Г., Остроумов Е.Н., Ермоленко А.Е.** Механизмы адаптации внутрисердечной гемодинамики к нагрузке объемом у диализных пациентов по данным радиоизотопной скинтиграфии. *Нефрология и диализ*. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 206–208.
23. **Строков А.Г., Терехов В.А.** Показатель относительного объема крови у пациентов на программном гемодиализе. *Нефрология и диализ*. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 101–105.
24. **Копылова Ю.В., Строков А.Г., Поз Я.Л. и др.** Заместительная почечная терапия при трансплантации сердца: Сборник материалов 7-й Международной конференции «Актуальные вопросы экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии». – М., 2010.
25. **Терехов В.А., Строков А.Г.** Показатель относительного объема крови как средство профилактики артериальной гипотензии в ходе гемодиализа. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 101–105.
26. **Строков А.Г., Гаврилин В.А., Терехов В.А.** Гипертрофия левого желудочка у пациентов на программном гемодиализе. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 48–51.
27. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г.** Острое повреждение почек в раннем послеоперационном периоде при трансплантации сердца: факторы риска и заместительная терапия. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 24–28.
28. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г.** Профилактика и лечение острого повреждения почек при кардиохирургических операциях с искусственным кровообращением и трансплантации сердца. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 100–107.
29. **Строков А.Г., Поз Я.Л.** Антикоагуляция при почечной заместительной терапии: классические подходы и новые возможности. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 80–85.



30. **Строков А.Г., Терехов В.А., Гаврилин В.А., Поз Я.Л.** Интрадиализная артериальная гипотензия и ее профилактика при помощи мониторинга относительного объема крови. *Нефрология и диализ.* – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 250–255.
31. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Попцов В.Н.** Заместительная почечная терапия в раннем послеоперационном периоде при трансплантации сердца. Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2010. – Т. 12. – С. 231.
32. **Гаврилин В.А., Строков А.Г.** Роль предсердного вклада в поддержании адекватной гемодинамики в ходе гемодиализа. Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2010. – Т. 12. – С. 330.
33. **Трухманов С.Б., Строков А.Г., Азизов Г.А., Муха А.В.** Портативная и носимая искусственные почки становятся реальностью, на очереди создание имплантируемой искусственной почки (обзор литературы). *Хирургическая практика.* – 2011. – № 2. – С. 27–30.
34. **Копылова Ю.В., Поз Я.Л., Ухренков С.Г., Спирина Е.А., Попцов В.Н., Строков А.Г.** Острое повреждение почек при трансплантации сердца: факторы риска и показания к заместительной почечной терапии. *Нефрология и диализ.* – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 419–425.
35. **Гаврилин В.А., Копылова Ю.В., Крышин К.Н., Кутузова А.В., Поз Я.Л., Строков А.Г., Терехов В.А.** Биоимпедансная спектрометрия в практике диализного центра. *Ремедиум-Приволжье.* – 2012. – № 1. – С. 33.
36. **Строков А.Г., Поз Я.Л., Гаврилин В.А., Копылова Ю.В., Крышин К.Н., Кутузова А.В., Терехов В.А.** Биоимпедансный анализ в практике программного гемодиализа: краткий обзор литературы и собственный опыт диализного центра. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 59–66.
37. **Строков А.Г., Поз Я.Л., Крышин К.Н.** Управление термальным балансом с целью профилактики интрадиализной гипотензии. *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 59–64.



---

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

---

**Ахаладзе Дмитрий Гурамович**

## **РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТАТА ЛЕВОГО ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕКТОРА ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ**

**14.01.24 – трансплантология и искусственные органы**

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

**Москва – 2013**

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

**Научный руководитель:**  
академик РАН,  
профессор

**Готье Сергей Владимирович**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА**

### **Актуальность проблемы**

Идея и первое практическое использование анатомически автономного фрагмента печени в качестве трансплантата принадлежит Э.И. Гальперину [Шумаков В.И., Гальперин Э.И. и соавт., 1978]. За последнее десятилетие родственная трансплантация левого латерального сектора печени завоевала приоритет в лечении тяжелых диффузных и нерезектабельных очаговых болезней печени в педиатрической практике [Готье С.В. и соавт., 1998]. Ключом к успешной трансплантации является адекватное восстановление афферентного и эфферентного кровотока трансплантата. К настоящему времени накоплен богатый опыт трансплантаций левого латерального сектора печени детям с использованием разнообразных вариантов выполнения гепатико-кавальной, портальной и артериальной реконструкции [Broelsch C., Emond J. et al., 1988].

Существует мнение о необходимости использования венозных ауто-трансплантатов для восстановления венозного оттока от левого латераль-

ного сектора печени [Malago M. et al., 2005]. Также дискутируется вопрос о количестве печеночных вен, подлежащих реконструкции [Soyer P. et al., 1995]. При выполнении порто-портального анастомоза необходимо решить задачу нивелирования разницы в диаметрах сшиваемых сосудов, а также преодолеть дефицит длины воротной вены реципиента [Lerut J. et al., 1987] или отсутствие последней, встречающееся при некоторых аномалиях развития или как результат предшествующих хирургических вмешательств [Готье С.В. и соавт., 2008]. Восстановление артериального кровотока трансплантата сопряжено с рядом технических трудностей, что связано с наличием того или иного варианта артериальной архитектоники печени и малым диаметром анастомозируемых сосудов [Soliman T. et al., 2003].

Несмотря на многочисленные серии операций, проводимых в разных странах мира, в настоящее время нет единого мнения об оптимальных подходах и методиках реваскуляризации трансплантата у детей, так как именно педиатрическая трансплантация фрагмента печени связана с максимальным числом технических сложностей. Эти обстоятельства определяют необходимость усовершенствования существующих методов и разработку критериев диагностики состояния сосудистой системы печени на до- и послеоперационном этапах лечения.

Использование инновационных технологий визуализации и компьютерного моделирования открывает новые возможности для предоперационного исследования анатомии печени и прогнозирования возможных вариантов сосудистой реконструкции при трансплантации фрагмента печени.

Поскольку единый подход к выполнению разных этапов этой операции не сформулирован и при этом накоплен значительный собственный опыт, сравнение методик и результатов реваскуляризации трансплантата левого латерального сектора печени представляется актуальным.

## **Цель исследования**

Клинико-анатомическое обоснование и оптимизация методики выполнения гепатико-кавальной, портальной и артериальной реконструкции при родственной трансплантации левого латерального сектора печени.

## **Задачи исследования**

1. Определить основные направления дооперационной оценки ангиоархеологии левого латерального сектора печени потенциального родственного донора с точки зрения возможности реваскуляризации трансплантата в брюшной полости реципиента.
2. Сформулировать основные принципы и методику реконструкции венозного (кавального) оттока при трансплантации левого латерального сектора печени.

3. Разработать принципы и методику реконструкции портального притока при трансплантации левого латерального сектора печени.
4. Определить принципы и методику артериальной реваскуляризации при имплантации левого латерального сектора с учетом анатомических вариантов артериального притока печени донора, реципиента и анатомических особенностей у детей.
5. Определить алгоритм оценки сосудистых анастомозов в посттрансплантационном периоде.

## **Научная новизна работы**

На основании сравнительного анализа результатов дооперационной оценки сосудистой архитектоники планируемого трансплантата в организме донора и интраоперационной картины впервые разработаны принципы сосудистой реконструкции при имплантации левого латерального сектора печени.

Разработан алгоритм оценки динамических характеристик кровотоков при вновь сформированных анастомозах. Установлены диагностические возможности и сформулированы рекомендации по применению комплексного абдоминального ультразвукового исследования и спиральной компьютерной томографии при оценке функции анастомозов и выборе тактики лечения в соответствии с выявленными изменениями.

## **Практическая значимость**

В работе представлены этапы хирургического вмешательства у родственного донора по получению левого латерального сектора печени в качестве трансплантата. Разработана и практически обоснована оригинальная адекватная методика реваскуляризации трансплантата левого латерального сектора. Предложены рациональные приемы для членов хирургической бригады при выполнении различных этапов сосудистой реконструкции. Обосновано практическое применение комплексного ультразвукового исследования в послеоперационном периоде и показания к выполнению спиральной компьютерной томографии для контроля состояния анастомозов. Представлена тактика лечения сосудистых осложнений. Изложенные рекомендации, касающиеся проведения операции у реципиента, имеют практическую ценность для хирургов-трансплантологов при осуществлении родственной трансплантации печени в педиатрической практике.

Работа выполнена в хирургическом отделении № 2 (абдоминальной хирургии и трансплантации) ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

## **Апробация работы**

Апробация работы состоялась 21 июня 2013 года на заседании объединенной научной конференции сотрудников клинических и научных подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

По материалам диссертации опубликовано 11 работ, из них 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Материалы диссертации доложены на II конференции Общества трансплантологов (Москва, 2010), VI Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2012), Всероссийском симпозиуме молодых ученых «Современные проблемы хирургии и хирургической онкологии» (Москва, 2012), а также на съезде Международной педиатрической трансплантологической ассоциации (International Pediatric Transplant Association) в Варшаве (2013).

## **Структура и объем работы**

Диссертация изложена на 112 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 98 источников (9 отечественных и 89 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 4 таблицами и 89 рисунками.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа основана на анализе 100 последовательных трансплантаций левого латерального сектора печени, выполненных в отделении абдоминальной хирургии и трансплантации ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России за период с мая 2008 года по апрель 2011 года. Среди оперированных детей было 46 мальчиков и 54 девочки в возрасте от 3 месяцев до 5 лет ( $11,4 \pm 10,3$  мес), с массой тела от 5 до 15,4 кг ( $7,4 \pm 2,3$ ).

Показанием к трансплантации явились терминальные стадии печеночной недостаточности в исходе представленных в табл. 1 болезней печени.

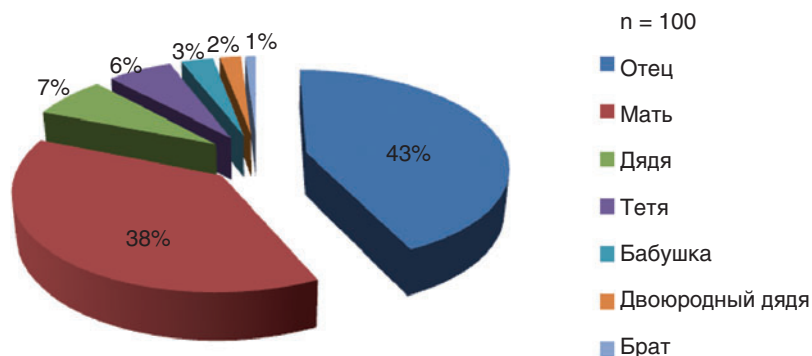
Среди включенных в исследование пациентов ранее были оперированы 33 ребенка. Большинству из них (в 27 случаях) была выполнена портоэнтеростомия по Касаи в сроки от 33 суток жизни до 7 месяцев. 8 детей оперированы в возрасте от 2 месяцев до 4 лет. В четырех случаях выполнены диагностические лапаротомии с биопсией печени, в одном – лапароскопическая герниопластика, в одном – дренирование общего желчного протока, в одном – холецистодуоденостомия, в одном – атипичная резекция IV сегмента печени.

Таблица 1

## Нозологические формы поражения печени

Нозологическая единица	n
Цирроз печени в исходе билиарной атрезии	51
Цирроз печени в исходе билиарной гипоплазии (несиндромальной)	13
Цирроз печени в исходе синдрома Алладжила	11
Болезнь Байлера	9
Болезнь Кароли	5
Цирроз печени в исходе аутоиммунного гепатита	2
Цирроз печени в исходе дефицита $\alpha$ 1-антитрипсина	2
Синдром Криглера–Найяра I типа	1
Цирроз печени в исходе синдрома Бадда–Киари	1
Гепатобластома	3
Цирроз печени неуточненной этиологии	1
Множественные абсцессы печеночного трансплантата	1

Донорами левого латерального сектора печени стали родственники пациентов (51 мужчина и 49 женщин) в возрасте от 18 до 57 ( $27,9 \pm 6,9$ ) лет. Степень родства доноров представлена на рис. 1.



**Рис. 1.** Степень родства доноров и реципиентов левого латерального сектора печени

Среди инструментальных методов обследования особое значение придавалось методам диагностической визуализации анатомических структур печени донора и реципиента, в частности ультразвуковому исследованию и спиральной компьютерной томографии с внутривенным контрастным усилением.

**Ультразвуковое исследование** в режимах серошкального сканирования (В-режим), цветного доплеровского картирования и спектральной доплерографии являлось скрининговым исследованием, позволяющим сразу отвергнуть ряд лиц, обследуемых в качестве доноров, которые не



соответствовали критериям включения. Метод позволял оценить состояние печеночной паренхимы в целом, а также выявить те или иные анатомические особенности артериального, портального кровоснабжения и венозного оттока печени. Исследование проводилось с помощью прибора Prosound SSD – 4000 SV (Япония), с помощью конвексного датчика 3,5–4,0 МГц.

В послеоперационном периоде ультразвуковое исследование приобретало ведущую роль в динамическом **наблюдении за реципиентом.**

**Спиральная компьютерная томография** с внутривенным контрастным усилением давала возможность детально оценить не только анатомию кровоснабжения, но и получить косвенные данные о морфофункциональном состоянии печени донора. Ниже сформулированы основные задачи, решаемые с помощью спиральной компьютерной томографии:

- оценить размеры, конфигурацию и качество паренхимы печени;
- определить расчетную массу будущего трансплантата;
- детализировать анатомию венозного оттока от левого латерального сектора, оценить конфигурацию, уровни и варианты деления воротной вены, а также установить индивидуальные топографо-анатомические особенности артериального притока.

Исследование проведено у 100 доноров и 100 реципиентов, впоследствии перенесших оперативные вмешательства. Спиральную компьютерную томографию выполняли на 64-срезовом компьютерном томографе со скоростью вращения гентри 1 оборот за 0,37 секунды. Исследование проводилось в положении лежа на спине. У реципиентов спиральную компьютерную томографию выполняли с целью диагностики состояния органов брюшной полости в условиях сформированного цирроза печени, а также для определения очагового поражения. При проведении исследования реципиенты младшей возрастной группы находились в состоянии медикаментозной седации, осуществляемой в присутствии анестезиолога, путем внутривенного введения 1% раствора неингаляционного анестетика Пропофола в дозе 1–5 мг/кг. Реконструкцию трехмерного изображения проводили на компьютерной станции, оснащенной программным обеспечением «Syngo», Германия. Внутривенное контрастное усиление выполнялось с помощью автоматизированного шприца-дозатора «Visitron CT». Контрастирование у доноров осуществлялось рентген-контрастными веществами «Omnipak 350» в дозе 1,5–2 мл/кг и со скоростью инфузии 4,5–5 мл в секунду; у детей использовали контрастное вещество «Ultravist 370», которое вводилось со скоростью 1,5 мл/сек.

**Всем донорам выполнялась левосторонняя латеральная секторэктомия.** На основании принципов хирургии живых родственных доноров и необходимости получить жизнеспособный трансплантат с приемлемым

анатомическим вариантом кровоснабжения и желчеоттока основными задачами при операции у донора были:

- минимизация кровопотери при сохраненном кровоснабжении печени в период разделения паренхимы;
- сокращение времени тепловой ишемии трансплантата;
- получение пригодных для последующей реконструкции участков сосудов (левой печеночной вены, левой ветви воротной вены и левой печеночной артерии).

**Операция у детей раннего возраста** имела ряд особенностей ввиду маленьких размеров брюшной полости ребенка и проявлений основной болезни: гепатомегалии, спленомегалии, а также портальной гипертензии. Факторами, осложняющими операцию, были последствия перенесенного ранее оперативного вмешательства.

После пересечения связочного аппарата печени, мобилизации над-, подпеченочных и ретропеченочного отделов нижней полой вены и диссекции на протяжении элементов печеночно-двенадцатиперстной связки приступали к собственно гепатэктомии, которая включала:

- лигирование и пересечение долевых печеночных артерий;
- пережатие воротной вены сосудистым зажимом над областью слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен;
- пережатие подпеченочного (над устьями почечных вен), затем надпеченочного отделов нижней полой вены;
- отсечение печени острым путем по паренхиме над нижней полой веной с оставлением на ней небольшого фрагмента;
- продольное рассечение остатка печени над нижней полой веной;
- прецизионное лигирование, клипирование и пересечение коротких вен, дренирующих преимущественно I сегмент и следующих к нижней полой вене от правой доли печени.

**Методика имплантации левого латерального сектора печени.** После скелетизации и проверки герметичности нижней полой вены приступали к наложению сосудистых анастомозов.

Гепатико-каваальный анастомоз накладывался по разработанной в клинике методике, которая заключалась в создании широкого соустья путем объединения устьев печеночных вен реципиента с последующим рассечением нижней полой вены в нисходящем направлении, создавался треугольный дефект последней высотой 2,5–3 см, адекватный сформированному устью левой печеночной вены трансплантата. Анастомоз накладывался непрерывным швом нитью PDS 5/0 или 4/0.

Следующим накладывался порто-портальный анастомоз непрерывным швом нитью PDS 6/0. Завершение портальной реваскуляризации позволяло осуществить реперфузию трансплантата путем поочередного снятия зажимов:

- 1) с надпеченочного отдела нижней полой вены;
- 2) с воротной вены;
- 3) с подпеченочного отдела нижней полой вены.

После выполнения гемостаза, следующего за реперфузией, в основном заключающегося в коррекции герметичности гепатико-кавального анастомоза и дефектов стенки нижней полой вены, приступали к артериальной реконструкции. Принималось решение о выборе уровня печеночной артерии реципиента для анастомозирования с левой долевой печеночной артерией трансплантата.

Анастомоз накладывался атравматической нерассасывающейся нитью Prolene 7/0. Для увеличения просвета анастомозируемых сосудов прибегали к продольному рассечению соответствующих стенок артерий трансплантата и реципиента.

Во всех 100 случаях сосудистые анастомозы формировались при оптическом 3-кратном увеличении операционного поля.

**В послеоперационном периоде** помимо инфузионной, трансфузионной, антибактериальной, иммуносупрессивной, профилактической противогрибковой и противовирусной терапии, коррекции водно-электролитного состава крови назначалась профилактическая антиагрегантная и антикоагулянтная терапия. При наличии ультразвуковых признаков изменения кровотока по артерии и/или воротной вены трансплантата назначалась перманентная гепаринизация под контролем активированного частичного тромбопластинового времени с целевыми значениями 61–80 секунд.

Всем пациентам на ранних сроках проводилось мониторирование артериального давления, данных электрокардиографии, оксигенотерапия через назальную канюлю под контролем пульсоксиметрии.

Также проводился ежедневный контроль лабораторных показателей функции печени и почек, состояния системы гемостаза, в частности числа тромбоцитов.

**Реципиенты в течение первой недели после операции ежедневно подвергались ультразвуковому исследованию органов брюшной полости с прицельной доплерографической оценкой кровотоков через сформированные анастомозы трансплантата. При наличии показаний ультразвуковое исследование проводили чаще. После выписки из стационара контроль производился 1 раз в 3–4 месяца.**

Трансплантат оценивался по следующим критериям:

- 1) исследование размеров, контуров и эхогенности паренхимы;
- 2) визуализация и определение гемодинамических показателей в печеночной, воротной венах и в артерии трансплантата.

Нормальными считались форма кровотока по печеночной вене типа HV0 (трехфазная, с наличием волны обратного кровотока).

**Критериями адекватности портального кровотока считали: наличие четко визуализируемого ствола воротной вены до, в области и дистальнее анастомоза, отсутствие эхогенных масс в ее просвете. С помощью цветного доплеровского картирования и спектральной доплерофлоуметрии определялись направление (гепатопетальное) и форма кровотока (монофазный/турбулентный). Далее для оценки гемодинамических характеристик портального кровотока исследовались:  $V_{\max}$  (см/с),  $V_{\min}$  (см/с),  $V_{\text{ср}}$  (см/с).**

Для артерии трансплантата нормальными считались следующие характеристики: отчетливая визуализация при цветной доплерографии печеночной артерии до, в области и дистальнее анастомоза, прямолинейность хода печеночной артерии, отсутствие выраженных изгибов и наличия видимых участков ее сужения или расширения, а также оценивались индекс резистивности (РИ), пульсативный индекс (ПИ).

В сомнительных случаях для более точной диагностики проходимости и адекватности сформированных соустьев выполняли компьютерную томографию.

Статистическая обработка цифровых величин производилась при помощи стандартных методов статистического анализа с использованием пакета программ для персональных компьютеров.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**





При компьютерной томографии печени доноров выявлены представленные на рис. 2 варианты впадения печеночных вен левого латерального сектора и срединной вены в нижнюю полую вену.

При компьютерной томографии у детей в 97 случаях нижняя полая вена визуализировалась. Диаметр ее составлял от 4 до 9 мм. Отсутствие ретропеченочного отдела нижней полой вены встретилось в 3 случаях.

Анатомия воротной вены у доноров, по данным спиральной компьютерной томографии, отличалась постоянством. Так, в 94% случаев отмечена бифуркация воротной вены, а в 6% – транспозиция правых парамедианных вен, что не имело прикладного значения при трансплантации левого латерального сектора. Диаметр ее варьировал от 7 до 15 мм (средний диаметр  $10,3 \pm 2,8$  мм).

Из 51 реципиента с атрезией желчевыводящих путей гипоплазия ствола воротной вены диагностирована у 16. Отсутствие кровотока по воротной вене обнаружено у 4 больных. У пациентов с другими нозологическими формами поражения печени аплазия/гипоплазия воротной вены не выявлены.

Выявленные варианты артериального кровоснабжения левого латерального сектора печени донора представлены в табл. 2.

	
<p><b>Вариант А.</b> Левая печеночная вена формируется после слияния вен II и III сегментов. При отсечении левой печеночной вены трансплантат имеет 1 венозное устье. <b>77%</b></p>	<p><b>Вариант Б.</b> Вены II и III сегментов впадают в нижнюю полую вену единым устьем. Ствол левой печеночной вены отсутствует. При отсечении левой печеночной вены трансплантат имеет 2 венозных устья. <b>12%</b></p>
	
<p><b>Вариант В.</b> Левая и срединная печеночные вены впадают в нижнюю полую вену единым стволом. Левая печеночная вена отсекается от срединной. При отсечении левой печеночной вены трансплантат имеет 1 венозное устье. <b>6%</b></p>	<p><b>Вариант Г.</b> Вены II и III сегментов впадают в нижнюю полую вену отдельно. При отсечении венозных ветвей трансплантат имеет 2 венозных устья. <b>5%</b></p>

**Рис. 2.** Варианты впадения печеночных вен в нижнюю полую вену

Таблица 2

**Частота вариантов артериального кровоснабжения левого латерального сектора печени**

Вариант	Число наблюдений
Левая печеночная артерия	81
Левая печеночная артерия + краниальная печеночная артерия	16
2 левые печеночные артерии	3

**Гепатико-кавальная реконструкция.** «Окно» в передней полуокружности нижней полой вены формировалось из устьев правой, срединной и левой печеночных вен в 64 случаях, из устьев только срединной и левой – у 33 больных. Как правило, отверстие в нижней полой вене

было больше, чем сечение устья левой печеночной вены трансплантата, поэтому адекватность анастомозируемых отверстий достигалась путем рассечения стенки левой печеночной вены по диафрагмальной (задней) поверхности трансплантата, либо по его раневой поверхности, либо в обе стороны. В случае когда трансплантат имел 2 отдельных устья печеночной вены ( $n = 17$ ), для упрощения кавальной реконструкции медиальные стенки устьев 2 вен сшивались между собой непрерывным швом нитью PDS 6/0 или 5/0 с целью получения одного венозного устья. Гепатико-кавальный анастомоз формировался по методике «конец в бок» нитью PDS 4/0. При отсутствии ретропеченочного отдела нижней полой вены реципиента ( $n = 3$ ) анастомоз формировался между устьем левой печеночной вены трансплантата и объединенными устьями печеночных вен удаленной печени. К протезированию ретропеченочного отдела нижней полой вены не прибегали ни в одном из наблюдений.

**Портальная реконструкция.** Во всех случаях, когда кровоток по стволу воротной вены реципиента присутствовал, анастомоз накладывался между стволом воротной вены и левой ветвью воротной вены трансплантата (80 больных). При его гипоплазии только в 2 из 16 случаев анастомоз накладывали между левой ветвью воротной вены трансплантата и зоной слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен реципиента. При полной облитерации просвета воротной вены в результате тромбоза в одном случае (из четырех), при отсутствии возможности наложения анастомоза с зоной слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен, использовали вставку из нижней брыжеечной вены донора с целью преодоления дефицита длины. У остальных 14 больных с выраженной гипоплазией и трех больных с тромбозом воротной вены удалось использовать собственный ствол путем тромбэктомии и расширения диаметра анастомоза путем продольного рассечения его стенки.

**Артериальная реваскуляризация трансплантата.** Условия выполнения артериальной реваскуляризации зависели от анатомических вариантов строения артериального кровоснабжения печени донора и реципиента, размеров, конфигурации трансплантата и механических свойств сшиваемых сосудов.

При выполнении всех трансплантаций предпринимались попытки упростить артериальную реваскуляризацию трансплантата. Поэтому при наличии 2 артерий трансплантата для имплантации выбиралась артерия с большим диаметром. При выявлении варианта артериального кровоснабжения печени, когда левый латеральный сектор питался двумя ветвями (левая печеночная артерия + краниальная печеночная артерия) ( $n = 19$ ) – в 5 наблюдениях – одна ветвь лигировалась еще на донорском этапе операции, так как признавалась незначимой ввиду ее малого диаметра по сравнению с парной. В 4 случаях из них перевязана краниальная печеночная артерия, а в 1 – ветвь к левому латеральному сектору от левой печеночной

артерии. Это позволяло получить трансплантат с одной артерией. От остальных 14 доноров были получены трансплантаты с двумя артериальными стволами. Необходимость в анастомозировании обеих артериальных ветвей возникла только в одном случае (табл. 3).

При выборе подходящего участка артерии реципиента для формирования артериального анастомоза предпочтительным считали использование участков печеночной артерии в местах отхождения ветвей:

- желудочно-двенадцатиперстной артерии ( $n = 57$ );
- область бифуркации общей печеночной артерии на долевые ветви ( $n = 12$ ).

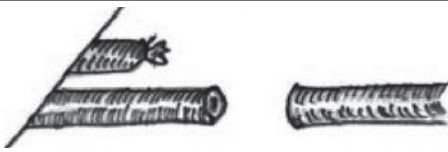
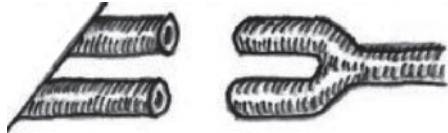
У 31 ребенка наиболее подходящими по диаметру для формирования артериального анастомоза признаны долевые ветви общей печеночной артерии:

- правая печеночная артерия ( $n = 23$ );
- левая печеночная артерия ( $n = 8$ ).

Варианты артериальной реконструкции, выполненные у 100 анализируемых реципиентов, отображены в табл. 3.

Таблица 3

### Варианты артериальной реконструкции трансплантата левого латерального сектора печени

Вариант артериального кровоснабжения	n	Способ реконструкции	%
1 артерия трансплантата	81	Стандартная техника артериальной реконструкции трансплантата: левая печеночная артерия + адекватная по длине и диаметру артерия реципиента	81
2 артерии трансплантата	19		18
			1

В 93 случаях артериальные анастомозы были наложены непрерывным обвивным швом. У остальных 7 детей анастомоз был наложен отдельными узловыми швами. Показаниями к формированию артериального анастомоза отдельными узловыми швами считали малый диаметр предполагаемого соустья после его продольного рассечения ( $< 2$  мм).

Внутренний диаметр артерии трансплантата колебался от 1,5 до 3 мм, средний внутренний диаметр артерии реципиента составлял 2,8 мм.

В двух случаях первоначально анастомозы формировались непрерывным швом, однако пульсация артерии дистальнее анастомоза после пуска кровотока была признана неудовлетворительной, в связи с чем было принято решение о реконструкции и повторном анастомозировании отдельными узловыми швами.

**Оценка функции сформированных сосудистых анастомозов.** В послеоперационном периоде адекватность гепатико-кавального, портального и артериального анастомозов оценивалась при динамическом ультразвуковом исследовании.

У большинства пациентов в первые сутки после трансплантации визуализирован кровоток типа HV0 и HV1 в 68 и 26 случаях соответственно. Впоследствии, к 4–7-м суткам, кровоток приобретал кривую HV0. Форма кровотока HV2 в течение первых суток встречалась в 6 случаях. Осложнений со стороны гепатико-кавального анастомоза в серии наблюдений, включенных в исследование, не было, вне зависимости от количества вен трансплантата. Также не отмечено осложнений у пациентов с подтвержденным отсутствием ретропеченочного отдела нижней полой вены.

У 96 оперированных пациентов адекватная функция портального анастомоза не вызывала сомнений в течение всего периода наблюдения. Тромбоз воротной вены трансплантата в раннем послеоперационном периоде имел место в четырех случаях. Как описывалось выше, нарушение портального кровотока трансплантата первично диагностировалось при ультразвуковым исследованием. Подозрения окончательно подтверждались при спиральной компьютерной томографии с внутривенным контрастированием. Во всех названных случаях синхронно с нарушением портального кровотока отмечали «артериализацию» кровотока в трансплантате, что позволяло не выполнять интервенционных вмешательств для реканализации воротной вены. Реканализация наступала самостоятельно на фоне усиления антикоагулянтной и дезагрегантной терапии. Лабораторные проявления дисфункции трансплантата, проявляющиеся одновременно с нарушением портального кровотока, оказывались временными и на фоне соответствующей терапии и восстановления портального притока купировались. Все указанные пациенты в удовлетворительном состоянии выписаны из стационара.

Тромбоз артерии трансплантата развился у двух пациентов. В одном случае после диагностики тромбоза незамедлительно выполнена успешная попытка реанастомозирования. У второго пациента повторная артериальная реконструкция не привела к ожидаемому результату, что привело к развитию дисфункции трансплантата. Необходимо отметить, что экстренное оперативное вмешательство и реанастомозирование артерии трансплантата имело смысл лишь на ранних сроках (в первые 12 часов) диагностики тромбоза артерии трансплантата, так как в таком случае существует надежда на отсутствие тромбоза всего артериального русла трансплантата.



Касаясь проблем послеоперационной диагностики состояния сосудистых анастомозов, следует констатировать, что комплексное ультразвуковое исследование в нашей серии наблюдений являлось основным инструментальным методом, позволявшим (до развития клинических проявлений дисфункции трансплантата) выявлять признаки возможной компретации артериальных, портальных сосудистых анастомозов.

Результаты УЗИ являлись четким, аргументированным указанием на необходимость проведения в экстренном порядке спиральной компьютерной томографии с внутривенным контрастным усилением, что способствовало в дальнейшем выработке правильной тактики коррекции выявленных осложнений, а значит, и последующей адекватной реабилитации реципиента.

В проведенном исследовании общая летальность составила 4% по причинам, не связанным с реваскуляризацией трансплантата. У 4 умерших пациентов к летальному исходу привели инфекционные осложнения, повлекшие за собой развитие сепсиса.

Результаты реваскуляризации трансплантата левого латерального сектора свидетельствуют об адекватности избранных методик выполнения сосудистых анастомозов и указывают на ряд характерных особенностей для каждого вида анастомоза. Учет этих особенностей влияет на качество выполнения сосудистой реконструкции.

## **ВЫВОДЫ**

1. Трансплантация левого латерального сектора печени предусматривает возможность комбинирования анатомических вариантов ангиоархитектоники печени донора и строения афферентного и эфферентного кровотока печени ребенка, который может иметь аномалии развития нижней полой и воротной вен.
2. Основным направлением предоперационной оценки анатомических условий предстоящей реваскуляризации левого латерального сектора у донора является определение варианта артериального кровоснабжения и строения венозного (кавального) оттока. У реципиента необходима визуализация портальной системы, в частности воротной вены и области слияния селезеночной и верхней брыжеечной вен. Детальная информация может быть получена при спиральной компьютерной томографии с внутривенным контрастированием.
3. Оптимальным способом реконструкции кавального оттока от донорского левого латерального сектора является формирование единого широкого соустья «конец в бок» между расширенным единым устьем печеночных вен II и III сегментов трансплантата и объединенными устьями печеночных вен удаленной печени. При врожденном отсутствии ретропеченочного отдела нижней полой вены соустье формируется

«конец в конец», что обеспечивает надежный венозный отток и фиксацию трансплантата.

4. С учетом значительного преобладания просвета воротной вены трансплантата (левой ветви воротной вены донора) над просветом воротной вены реципиента, особенно при гипоплазии сосуда, портальная реконструкция «конец в конец» предусматривает увеличение просвета анастомоза путем продольного рассечения левой стенки воротной вены реципиента в нисходящем направлении. При гипоплазии или отсутствии просвета воротной вены реципиента и достаточной длине воротной вены трансплантата целесообразно наложение анастомоза с зоной слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен. Необходимость в использовании венозной «вставки» возникает в 1% случаев.

5. Артериальная реваскуляризация левого латерального сектора печени у ребенка сопряжена с дефицитом длины и малым диаметром анастомозируемых сосудов. Расширение просвета анастомоза достигается продольным рассечением противоположных стенок артерий реципиента и трансплантата.

При диаметре просвета одного из сосудов менее 2 мм анастомоз целесообразно накладывать отдельными узловыми швами. При наличии двух артерий трансплантата (что встречалось в 18%) реваскуляризации подлежит одна из них, с наибольшим диаметром. Необходимость реваскуляризации второй артерии возникает в 1% случаев при отсутствии ретроградного кровотока из нее после включения первой артерии.

6. В раннем послеоперационном периоде после трансплантации левого латерального сектора печени необходим ежедневный мониторинг функции сосудистых анастомозов и динамических характеристик кровотоков трансплантата с помощью ультразвукового исследования с доплерофлоуметрией. При получении ультразвуковых данных за нарушение проходимости анастомозов или отсутствии четкой визуализации кровотоков показано выполнение спиральной компьютерной томографии с внутривенным контрастным усилением, позволяющим получить наиболее точные данные о состоянии анастомозированных сосудов и визуализировать непосредственно область сформированных соустьев.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Практическое осуществление реваскуляризации левого латерального сектора печени взрослого донора в брюшной полости ребенка предполагает прецизионность выполнения всех манипуляций, как при

подготовке анастомозируемых участков сосудов, так и при выполнении самого шва. Наибольших временных затрат (до 20–30 минут) требует наложение гепатико-кавального анастомоза. При этом продолжительность тепловой ишемии трансплантата не должна конкурировать с тщательностью наложения анастомоза.

2. Перемещение трансплантата в брюшной полости в процессе реваскуляризации не должно быть травматичным для паренхимы печени, что особенно важно до «включения» трансплантата в кровоток, так как повреждения капсулы могут стать дополнительным источником кровотечения при реперфузии, что конкурирует с необходимостью герметизации кавального и портального анастомоза.
3. Для наложения гепатико-кавального анастомоза целесообразно использовать резорбирующую монофиламентную нить PDS 4/0. Именно этот шовный материал обеспечивает возможность формирования более герметичного анастомоза, чем, например, нить PDS 5/0, поскольку, обладая достаточной прочностью, позволяет надежно затягивать шов без риска обрыва.
4. Сразу после завершения гепатико-кавальной реконструкции с целью уменьшения венозной гиперемии кишечника и удаления возможных тромботических масс сосудистый зажим на воротной вене реципиента снимается на 2–3 секунды, а свободная часть ее ствола промывается раствором гепарина.
5. Несовпадение диаметров воротной вены донора и реципиента нивелируется благодаря продольному рассечению одной из стенок воротной вены ребенка. При формировании порто-портального анастомоза наиболее уязвимой является стенка вены ребенка, особенно при наложении первого шва на угол продольного разреза. Поэтому начало сшивания стенок вен не должно сопровождаться активными тракциями со стороны ассистента, находящегося напротив и придерживающего трансплантат и не имеющего возможности наблюдать за действиями хирурга.
6. Наиболее адекватным шовным материалом для наложения порто-портального анастомоза с точки зрения минимизации повреждения стенки воротной вены ребенка является монофиламентная нить PDS 6/0 или полипропилен.
7. При наложении порто-портального анастомоза в области слияния селезеночной и верхней брыжеечной вен мобилизация последних необязательна. Достаточно наложения педиатрического сосудистого зажима и подтягивания сосудов кпереди. При этом может быть получена площадка протяженностью до 1 см, достаточная для наложения соустья с воротной веной трансплантата. При дефиците длины воротной вены трансплантата возможно использование венозной вставки из нижней брыжеечной вены родственного донора.

8. Блок кровотока по печеночной артерии продолжительностью более двух часов (когда выполняется гепатэктомия, герметизация нижней полой вены и наложение венозных анастомозов) может привести к образованию кровяных тромбов в просвете сосуда, поэтому перед выполнением артериального анастомоза просвет артерии реципиента необходимо освободить от сгустков проксимальнее зоны анастомоза. Критерием свободного артериального русла является получение полноценной струи крови при снятии зажима.
9. Предпочтительно использовать естественные расширения сосудов в области отхождения артериальных ветвей. При отсутствии возможности использования естественных расширений артерий целесообразно накладывать анастомоз, увеличив его диаметр за счет продольного рассечения стенок обеих артерий. Выполнение артериальной реваскуляризации требует прецизионных действий всей хирургической бригады. Необходимо обеспечивать неподвижность операционного поля. Оптимальным шовным материалом для выполнения артериального анастомоза является полипропиленовая нить 7/0.
10. При наложении артериального анастомоза левый латеральный сектор должен удерживаться в правом поддиафрагмальном пространстве практически вертикально (ранево́й поверхностью кзади). Только в таком положении короткий отрезок артерии трансплантата становится доступным манипуляциям.
11. В конце операции, после завершения билиарной реконструкции, необходимо убедиться в правильной укладке трансплантата. При этом следует убедиться в отсутствии чрезмерного натяжения воротной вены, которая может быть сдавлена нижним краем трансплантата. В подобных случаях трансплантат должен быть фиксирован в положении, исключающем сдавление воротной вены. С этой целью следует наложить 1 шов между остатками серповидной связки и брюшной стенки.
12. Не менее важна профилактика перегиба артерии при укладывании трансплантата. При наличии угрозы перегиба следует фиксировать сосуд в выгодном положении либо к стволу воротной вены, либо к окружающим тканям. Целесообразно выполнить контрольное ультразвуковое исследование тотчас после закрытия послеоперационной раны.
13. При проведении ультразвукового мониторинга в послеоперационном периоде необходимо учитывать, что любые изменения характеристик портального и артериального кровотоков в трансплантате требуют анализа для выявления причин, включающих как паренхиматозные изменения самого трансплантата, так и нарушения системы гемостаза и изменения волемического статуса ребенка.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Аммосов А.А., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Хизроев Х.М., Арзуманов С.В., Гамгия Н.В., Ухренков С.Г., Пчельников В.В., Муратова Н.Ш., Пец В.А., Погребниченко И.В., Фокин С.В., Ахаладзе Д.Г. и соавт.* Трансплантация печени у детей // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, № 2. – С. 6–7.
2. *Готье С.В., Аммосов А.А., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Хизроев Х.М., Арзуманов С.В., Гамгия Н.В., Ухренков С.Г., Пчельников В.В., Муратова Н.Ш., Пец В.А., Минина М.Г., Погребниченко И.В., Фокин С.В., Ахаладзе Д.Г. и соавт.* Трансплантация печени у детей // Материалы II конференции Общества трансплантологов. – Москва, 24 апреля 2010. – С. 34–35.
3. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Аммосов А.А., Хизроев Х.М., Арзуманов С.В., Гамгия Н.В., Попцов В.В., Ухренков С.Г., Пчельников В.В., Муратова Н.Ш., Пец В.А., Чеклецова Е.В., Цирульникова И.Е., Погребниченко И.В., Фокин С.В., Ахаладзе Д.Г. и соавт.* Трансплантация печени у детей // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2010. – Т. XII. – Приложение. – С. 112–113.
4. *Готье С.В., Ахаладзе Д.Г.* **Технические аспекты сосудистой реконструкции при трансплантации левого латерального сектора печени взрослого донора в педиатрической практике** // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, № 1. – С. 86–94.
5. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Гичкун О.Е., Макарова Л.В., Цирульникова И.Е., Ахаладзе Д.Г. и соавт.* **Прогностическое значение растворимой формы лиганда CD40 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы** // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, № 2. – С. 15–19.
6. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Лурье Ю.Э., Бугров А.В., Цирульникова И.Е., Ахаладзе Д.Г., Готье С.В.* **Динамика гормона роста при трансплантации печени детям раннего возраста с заболеваниями гепатобилиарной системы** // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, № 3. – С. 31–36.
7. *Готье С.В., Шевченко О.П., Кунцевич Н.В., Ахаладзе Д.Г., Арзуманов С.В.* Позитивная динамика биомаркеров оксидативного стресса при оказании трансплантологической помощи пациентам с диабетической нефропатией // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – Приложение. – С. 114–115.
8. *Лурье Ю.Э., Цирульникова О.М., Бугров А.В., Хизроев Х.М., Ахаладзе Д.Г., Шевченко О.П.* Соматотропный гормон при трансплантации печени детям с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – Приложение. – С. 157–158.
9. *Шевченко О.П., Гичкун О.Е., Цирульникова О.М., Ахаладзе Д.Г., Макарова Л.В., Шмерко Н.В., Долгов В.В., Готье С.В.* Уровень растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L) коррелирует с количеством лимфоцитов у детей с

врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – Приложение. – С. 160.

10. **Akhaladze D.**, *Gautier S.* Revascularisation technique in the liver left lateral section transplantation in children // *Pediatric Transplantation.* – 2013. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. 97.
11. *Tsirulnikova I.*, *Gautier S.*, *Tsirulnikova O.*, **Akhaladze D.**, *Kuncevich N.*, *Shevchenko O.* ABO-incompatible living donor liver transplantation in pediatric recipients: report of 13 cases // *Pediatric Transplantation.* – 2013. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. 43.

**Белокуров Денис Александрович**

**КОРРЕКЦИЯ ПОРОКОВ СЕРДЦА  
В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО  
КРОВООБРАЩЕНИЯ У БОЛЬНЫХ  
НА ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ**

**14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия**

**14.01.24 – трансплантология и искусственные органы**

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

**Москва – 2013**

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

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук,  
профессор

**Семеновский Моисей Львович**

доктор медицинских наук,  
профессор

**Мойсюк Ян Геннадиевич**

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА**

**Актуальность проблемы**

Коррекция пороков сердца в условиях искусственного кровообращения у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (ХПН), получающих заместительную почечную терапию программным гемодиализом, перитонеальным диализом, и реципиентов почечного трансплантата, несмотря на немалый срок с момента первых сообщений о таких операциях [Lansing A.M. et al., 1968], остается нерешенной, но практически важной проблемой. Более того, как правило, многие кардиохирурги считают, что наличие такой отягощающей патологии является противопоказани-

ем для операции. Естественно, что пациенты данной группы составляют крайне тяжелую категорию с явлениями хронической субуремии и анемии [Zhender C. et al., 1992], водно-электролитными нарушениями и гипопро-теинемией [Fishbane S. et al., 1996; Block G. et al., 2004], злокачественным течением артериальной гипертензии у большинства больных [Charra B. et al., 1996; Galland R. et al., 1999] и высоким риском развития инфекционных осложнений, в частности «диализного» эндокардита [Doulton T. et al., 2003; Chang C.F. et al., 2004; Baroudi S. et al., 2008] и острой сердечной недостаточности в связи с развившимся пороком [Harnett J.D et al., 1995]. В связи со спецификой заболевания – ХПН и зависимостью от процедуры гемодиализа, перитонеального диализа [Spies C. et al., 2004] и постоянного приема иммуносупрессоров у пациентов с почечным трансплантатом [Paterson D.L. et al., 1998] наиболее часто у этой категории больных возникают острые ситуации, обусловленные развитием инфекционного эндокардита, которые в прогностическом плане являются наиболее сложными [Robinson D.L., et al. 1997; Ruttman E. et al., 2005]. В связи с наличием взаимно отягощающих заболеваний у данной категории больных и в соответствии с функциональными и витальными показаниями операции на сердце оказываются необходимыми для улучшения качества жизни и долгосрочного прогноза [Shroff G.R. et al., 2004]. При этом в случае необходимости протезирования клапанов сердца выбор типа протеза остается предметом дискуссии: с одной стороны – ранняя кальцификация биопротеза, с другой – высокий риск развития кровотечений на фоне постоянного назначения антикоагулянтов у пациентов на гемодиализе [Kaplon R.J. et al., 2000; Herzog C.A. et al., 2002; Brinkman W.T. et al., 2002; Chan V. et al., 2006; Aoki M. et al., 2007]. Риск оперативных вмешательств на сердце у пациентов, пребывающих в терминальной стадии ХПН, остается более высоким по сравнению с общей популяцией, а отдаленная выживаемость – относительно низкой. По данным некоторых авторов, 10-летняя выживаемость составляет всего 25% [Shroff G.R. et al., 2004]. Указанные результаты связывают с многочисленными сопутствующими (внесердечными) нарушениями, патологическими последствиями заболевания почек, а также с осложнениями процедуры гемодиализа и постоянного приема иммуносупрессивных препаратов у пациентов с почечным трансплантатом [Ono M. et al., 2002; Li Zhang et al., 2006; Voku N. et al., 2007; Shroff G.R. et al., 2008]. За период с 1993 года по настоящее время в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова накоплен уникальный для России опыт операций коррекции пороков сердца в условиях искусственного кровообращения у названной категории больных.

## **Цель исследования**

Обосновать основные положения по проведению операции коррекции пороков сердца в условиях искусственного кровообращения у пациентов



с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, получающих заместительную почечную терапию программным гемодиализом, перитонеальным диализом, и реципиентов почечного трансплантата.

### **Задачи исследования**

1. Изучить этиологию пороков сердца у больных на заместительной почечной терапии.
2. Определить показания к проведению операции на сердце в условиях искусственного кровообращения с позиции особенностей данной группы пациентов.
3. Разработать схемы до-, интра- и послеоперационного ведения пациентов в зависимости от вида заместительной почечной терапии.
4. Проанализировать непосредственные результаты операций на сердце в условиях искусственного кровообращения и их влияние на функцию почечного трансплантата.
5. Изучить отдаленные результаты коррекции пороков сердца в условиях искусственного кровообращения в зависимости от последующей тактики заместительной почечной терапии.

### **Научная новизна**

Впервые в России, на клиническом материале, включающем 43 операции у 40 пациентов, выполнен комплексный анализ широкого круга вопросов, связанных с проведением операции на сердце у больных, получающих различные виды заместительной почечной терапии и реципиентов почечного трансплантата. Проведен детальный анализ причин развития пороков сердца, непосредственных и отдаленных результатов коррекции пороков у больных в изученной группе. Разработан комплексный протокол периоперационного ведения данной крайне тяжелой категории пациентов. Впервые показана значимость последующей трансплантации почки в целях улучшения отдаленной выживаемости пациентов, оперированных во время пребывания на программном гемодиализе или перитонеальном диализе. Продемонстрировано, что у реципиентов почечного трансплантата функция пересаженной почки после операции на сердце в условиях искусственного кровообращения не страдает.

### **Практическая значимость работы**

Показано, что хроническая почечная недостаточность, корригируемая заместительной почечной терапией, не является противопоказанием для проведения операции на сердце в условиях искусственного кровообращения. Эта категория больных требует специального подхода. Разработанный протокол периоперационного ведения пациентов, получающих

различные виды заместительной почечной терапии, включающий решение специфических вопросов предоперационной подготовки, интраоперационного обеспечения и послеоперационного периода, основанный на анализе непосредственных и отдаленных результатов, позволяет по витальным показателям провести операции на сердце и у диализных пациентов выполнить следующий этап лечения – трансплантацию почки, что значительно улучшает качество жизни и отдаленную выживаемость данной категории больных.

## **Реализация результатов работы**

Результаты исследования используются в практической деятельности отделения реконструктивной хирургии пороков сердца и отделения пересадки почки и печени ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России и могут быть рекомендованы для использования в других кардиохирургических центрах страны.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 2 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК.

## **Апробация работы**

Апробация работы состоялась 10 июля 2013 года на заседании объединенной научной конференции сотрудников клинических и научных подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XIII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2007 г.); II Всероссийской научно-практической конференции «Высокие медицинские технологии» (Москва, 25–26 сентября 2007 г.); XIV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2008 г.); IV Всероссийском съезде трансплантологов памяти академика В.И. Шумакова (Москва, ноябрь 2008 г.); XV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2009 г.); Всероссийской конференции «Инфекция в трансплантологии» (3–4 декабря 2009 г.); V Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, октябрь 2010 г.); XVI Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2010 г.); XVII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2011 г.); VI Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, сентябрь 2012 г.); XVIII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2012 г.).

## Объем и структура работы

Диссертация изложена на 144 страницах машинописного текста, состоит из введения, 6 глав, содержащих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа содержит 28 таблиц, 8 диаграмм и 3 рисунка. Указатель литературы включает 4 отечественных и 189 зарубежных источников.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Клиническая характеристика пациентов

В настоящем исследовании анализируются результаты 43 операций коррекции пороков сердца в условиях ИК у 40 пациентов, выполненных с июня 1993 года по январь 2013 года в отделении реконструктивной хирургии приобретенных заболеваний сердца (заведующий – профессор М.Л. Семеновский) ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» МЗ РФ (директор – академик РАМН, профессор С.В. Готье).

Исследуемая группа больных включала 36 пациентов, получавших на момент проведения операции на сердце заместительную почечную терапию программным гемодиализом или перитонеальным диализом, и 4 реципиентов почечного трансплантата.

Средний возраст больных составил  $43,2 \pm 12,2$  года (от 17 до 64 лет).

*Таблица 1*

**Распределение оперированных больных по полу и возрасту (n = 40)**

	Пол		Возраст (лет)				
	Муж.	Жен.	≤20	21–30	31–40	41–50	>50
Число пациентов (%)	23 (57,5)	17 (42,5)	2 (5)	6 (15)	8 (20)	15 (37,5)	9 (22,5)

Согласно данным табл. 1, большинство оперированных пациентов были старше 40 лет. Оперированы 23 (57,5%) мужчины и 17 (42,5%) женщин.

Согласно данным табл. 2, основными заболеваниями почек, послужившими причиной развития терминальной стадии ХПН, явились хронический гломерулонефрит и хронический пиелонефрит.

Длительность нахождения на программном гемодиализе или перитонеальном диализе перед проведением операции на сердце составила от 1 до 195 месяцев (медиана 22 месяца), у 4 (10%) больных – реципиентов почечного трансплантата на момент протезирования клапанов сердца функция трансплантата оставалась удовлетворительной (табл. 3).

Таблица 2

**Этиология заболевания почек, приведшего к развитию терминальной стадии ХПН**

Причина	Число пациентов	(%)
Хронический гломерулонефрит	29	72,5
Хронический пиелонефрит	5	12,5
Быстро прогрессирующий гломерулонефрит	2	5
Гипертоническая нефропатия	1	2,5
Поликистоз	1	2,5
Лекарственный тубулоинтерстициальный нефрит	2	5
Всего	40	100

Таблица 3

**Методы заместительной почечной терапии на момент проведения операции на сердце**

Метод заместительной почечной терапии	Программный гемодиализ	Перитонеальный диализ	Трансплантация почки	Всего
Число пациентов (%)	33 (82,5)	3 (7,5)	4 (10)	40 (100)

Клапанный инфекционный эндокардит, как осложнение программно-гемодиализа или вследствие постоянной иммуносупрессии у реципиентов почечного трансплантата, явился причиной развития порока сердца у 28 пациентов (65%), у 5 пациентов (12%) имел место клапанный кальциноз, у 4 пациентов (9%) клапанный порок развился на фоне ревматизма, у 3 пациентов (7%) была диагностирована первичная дегенерация створок. У 2 больных (5%) – врожденный порок сердца – ДМПП. В 1 случае (2%) причиной порока сердца явилась острая расслаивающая аневризма аорты I типа по De Bakey с аортальной недостаточностью (рис. 1).



**Рис. 1.** Распределение больных по этиологии порока сердца (n = 43)

## Методы исследования

Всем пациентам после выявления жалоб и сбора анамнеза проводилось полное обследование с применением клинических (аускультация, перкуссия, пальпация) и необходимых лабораторных (общий и биохимический анализы крови, электролиты) и инструментальных методов исследования (биоимпедансная спектрометрия, рентгенография органов грудной клетки, электрокардиография, трансторакальная эхокардиография, по показаниям – чреспищеводная эхокардиография, коронарография, аорто-вентрикулография, компьютерная и магнитно-резонансная томография). Важным моментом при поступлении в клинику института являлась оценка волемического статуса пациентов, который определялся посредством мониторинга диуреза и биоимпедансного анализа – метода оценки степени гидратации и состава тела. Мы использовали устройство для многочастотной биоимпедансной спектрометрии (БИС) «Body Composition Monitor» (Fresenius Medical Care, ФРГ) с частотой измерения от 5 до 1000 кГц и стандартным расположением электродов на кисти и стопе с одной стороны. Принцип БИС основан на измерении сопротивления тканей организма электрическому току.

## Особенности предоперационного статуса оперированных больных

Все пациенты характеризовались наличием длительного гипертонического анамнеза, волемической перегрузки, анемии, электролитных нарушений и гипопротеинемии. При оценке водовыделительной функции у 23 пациентов, получавших ПГ и ПД, при поступлении в клинику Института была отмечена анурия, у 13 пациентов суточный диурез составлял 200–1000 мл, однако с сохранением высоких уровней азотистых шлаков и тенденции к гиперкалиемии и у 4 реципиентов почечного трансплантата с удовлетворительной почечной функцией суточный диурез был более 1000 мл. БИС была проведена у 8 пациентов, находящихся на ПГ. Средняя величина преддиализной гипергидратации среди обследованных пациентов составила  $2,43 \pm 1,98$  л. Дегидратация после процедуры ПГ в среднем равнялась  $1,09 \pm 0,34$  л, что соответствовало средней ультрафильтрации  $2,73 \pm 0,32$  л. Такой режим ультрафильтрации позволил подвести пациентов к операции на сердце в состоянии относительной эуволемии, которое у диализных пациентов определяется понятием «сухой вес».

Предоперационные показатели электролитного состава, общеклинического и биохимического анализов крови представлены в табл. 4.

Таблица 4

**Предоперационные показатели лабораторных методов исследования**

Показатель	Метод заместительной почечной терапии		
	ПГ	ПД	ТП
Нв (г/л)	99,5 ± 16,9	126 ± 21,1	110,5 ± 13,2
Эритроциты (×10 <sup>12</sup> /л)	3,2 ± 0,6	4,3 ± 0,9	3,5 ± 0,6
Тромбоциты (×10 <sup>9</sup> /л)	202,9 ± 52,3	297 ± 16,5	251,5 ± 38,2
Мочевина (ммоль/л)	25,5 ± 8,7	18,2 ± 4,1	12,9 ± 3,8
Креатинин (мкмоль/л)	788,6 ± 258,9	813,3 ± 209,8	143,5 ± 72,3
Общий белок (г/л)	63,9 ± 6,3	68,9 ± 10,9	66,5 ± 9,5
K <sup>+</sup> (ммоль/л)	5,2 ± 0,9	3,8 ± 0,3	3,9 ± 0,2

По характеру порока сердца, так же как и по числу пораженных клапанов, наши пациенты составляли достаточно неоднородную группу больных, в которой имелись случаи поражения как одного, двух клапанов, так и развития тривальвулярного порока сердца. При этом органического поражения клапанов правых камер сердца отмечено не было. Изолированная недостаточность аортального клапана на фоне ИЭ имела место в 9 (21%) случаях, изолированная митральная недостаточность также в 9 (21%), при этом в 1 случае изолированная митральная недостаточность развилась через 15 месяцев после первичной операции на сердце, выполненной по поводу недостаточности аортального клапана на фоне ревматизма. В 2 (5%) случаях ИЭ стал причиной развития недостаточности митрального и относительной недостаточности трикуспидального клапанов. В 4 (9%) случаях у пациентов был диагностирован двухклапанный митрально-аортальный ИЭ. В 2 (5%) случаях ИЭ стал причиной развития тривальвулярного порока сердца. Тромбэндокардит протеза митрального клапана развился у 2 (5%) пациентов: в 1 случае ранний протезный эндокардит был диагностирован на 22-е сутки после первичного клапанного протезирования по поводу митральной недостаточности на фоне инфекционного эндокардита; в другом случае у пациентки был диагностирован тромбэндокардит протеза митрального клапана через 6 месяцев после первичной операции – митрально-аортального протезирования, выполненной также по поводу инфекционного эндокардита. Ревматическое поражение створок с формированием клапанного порока сердца имело место в 4 случаях: в 1 (2%) случае – развитие аортальной недостаточности, в 2 (5%) случаях – митральной и относительной трикуспидальной недостаточности и в 1 (2%) случае – митрального стеноза. В 5 случаях порок клапанов сердца развился вследствие атеросклероза, при этом в нашей серии пациентов было отмечено 3 (7%) случая аортального стеноза с кальцинозом аортального клапана 3 степени, который в 1 (2%) случае сочетался с относительной трикуспидальной недостаточностью, и 2 (2%) случая комбинирован-

ного аортального порока с преобладанием недостаточности, при этом у 1 больного с наличием аневризмы восходящего отдела аорты без расслоения. В 3 (7%) случаях причиной порока явилась первичная дегенерация створок митрального клапана с развитием митральной недостаточности, которая в 1 случае сочеталась с относительной недостаточностью трикуспидального клапана. Острая расслаивающая аневризма аорты I типа по De Bakey с недостаточностью аортального клапана послужила причиной развития порока в 1 (2%) случае. И также в 2 (5%) случаях имел место вторичный ДМПП со сбросом крови слева направо. При клинической оценке тяжести состояния больных использовалась классификация стадий недостаточности кровообращения по Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко. Функциональное состояние пациентов оценивалось согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) (табл. 5).

Таблица 5

**Распределение пациентов в зависимости от стадии недостаточности кровообращения и функционального класса на момент операции (n = 43)**

	Функциональный класс				Недостаточность кровообращения		
	I	II	III	IV	I	IIA	III
Число пациентов (%)	–	1 (2,3)	23 (53,5)	19 (44,2)	–	24 (55,8)	19 (44,2)

8 (20%) больных имели ИБС с гемодинамически значимым поражением коронарных артерий, и у 1 пациента в анамнезе имел место инфаркт миокарда.

**Хирургическая техника и тактика периперационного ведения**

Показания к проведению операции коррекции пороков сердца в условиях ИК у пациентов с ХПН возникают в двух случаях:

- развитие порока сердца на фоне заместительной почечной терапии программным гемодиализом или перитонеальным диализом;
- поражение клапанов сердца у реципиентов почечного трансплантата на фоне постоянной иммуносупрессии.

Комплекс гемодинамических и физиологических сдвигов, развивающихся у пациентов во время и после проведения ИК, требует решения ряда специфических вопросов.

**Предоперационная подготовка**

**Модификация схемы заместительной почечной терапии.** Гемодиализация online (HDF online) осуществлялась на аппаратах Fresenius

4008 и 5008 Therapy System с применением гемодиафильтров FX 80 и FX 100 и бикарбонатным диализатом, позволяющим в полной мере корригировать гомеостатические расстройства. При наличии анемии (Hb менее 70 г/л) и гипопроотеинемии (общий белок ниже 60 г/л) проводилась коррекция назначением рекомбона 2000 МЕ 3 раза в неделю, а при необходимости гемотрансфузии и инфузии белковых препаратов. Пациенты на ПД проводили диализ самостоятельно в режиме смены раствора 4 раза в сутки по 2 л, при этом непосредственно перед операцией им проводился сеанс ПГ.

**Иммуносупрессивная терапия.** 4 реципиента почечного трансплантата получали 3-компонентную иммуносупрессивную терапию в дозировках, определенных нефрологом-трансплантологом. Прием иммуносупрессивных препаратов продолжался утром накануне операции у всех пациентов. Следующая доза иммуносупрессивных препаратов назначалась на следующий день после операции. Во время операции назначалось в/в введение метилпреднизолона (250–500 мг). Доза ингибиторов кальциневрина контролировалась посредством определения концентрации препаратов в плазме крови. За основу при оценке почечной функции брался уровень креатинина плазмы до операции с дальнейшим ежедневным мониторингом после операции. При подозрении на острую дисфункцию трансплантата, при снижении темпа диуреза или увеличении уровня креатинина плазмы соответственно регулировалась доза иммуносупрессивных препаратов. Ежедневный диурез у этих четверых пациентов был свыше 1500 мл, предоперационные уровни креатинина варьировали от 80 до 247 мкмоль/л (в среднем  $143,5 \pm 72,3$  мкмоль/л), мочевины – от 9,2 до 18,1 ммоль/л (в среднем  $12,9 \pm 3,8$  ммоль/л).

**Антибиотикотерапия.** В 28 случаях инфекционного эндокардита до операции назначались антибиотики широкого спектра – цефтриаксон, сульперазон, трифамокс, авелокс, сумамед, дозировка которых контролировалась с учетом клиренса креатинина.

**Анестезиологическое обеспечение.** В предперфузионном периоде важной задачей считали максимально возможную коррекцию исходных гомеостатических расстройств (анемии, гипопроотеинемии, метаболического ацидоза). В обязательном порядке довели профилактику коагулопатических расстройств, назначая после стернотомии апротинин в дозе 3–5 млн Ед. У пациентов с функционирующим почечным трансплантатом подобная терапия не проводилась, поскольку назначение этого препарата могло неблагоприятно отразиться на функции трансплантата.

**Искусственное кровообращение.** Проводили по общепринятой методике на аппаратах «Gambro» (Швеция) или «Stockert» (Германия) с применением одноразовых мембранных оксигенаторов и гемоконцентраторов фирмы «Didaco» (Италия). Для первичного заполнения контура аппарата ИК использовались кристаллоидные и коллоидные плазмозаменители с различными компонентами. Из кристаллоидов чаще всего



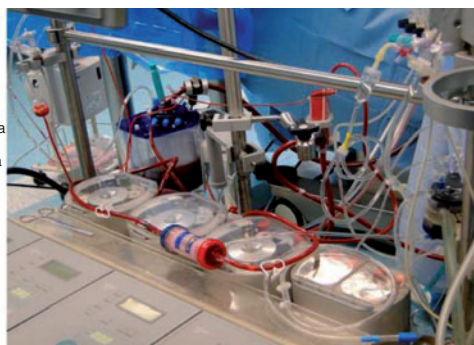
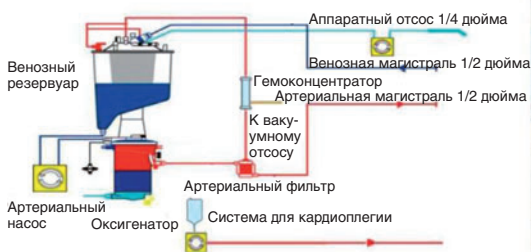
применяли 5% раствор глюкозы, сбалансированные солевые компоненты (рингер-лактат, плазмолит-148), маннитол, из коллоидных плазмозаменителей – гелофузин, гемодез, реополиглюкин, 10 и 20% растворы альбумина. В 35 случаях (85,4%) при первичном заполнении аппарата ИК применяли компоненты крови. Объем первичного заполнения контура аппарата ИК варьировал от 1370 до 2320 мл.

После достижения целевых значений АСТ, которое поддерживали в пределах 400–500 секунд, начинали ИК. Перфузию проводили в условиях умеренной (25–32 °С) гипотермии. В одном случае супракоронарное протезирование восходящего отдела аорты сосудистым протезом «Gelseal-24» выполнялось в условиях глубокой гипотермии (12 °С), циркуляторного ареста и ретроградной перфузии головного мозга. Среднее артериальное давление поддерживали на уровне 50–60 мм рт. ст. У пациентов с функционирующим трансплантатом среднее перфузионное давление поддерживалось в пределах 60–90 мм рт. ст., по возможности без использования вазопрессоров.

Защита миокарда осуществлялась с применением различных методик, которые включали фармако-холодовую кардиоплегию и наружное охлаждение сердца льдом. Методики защиты миокарда включали:

- антеградную (в корень аорты или отдельно в устья коронарных артерий) и ретроградную (в коронарный синус) кардиоплегию охлажденным раствором внеклеточного типа на основе крови каждые 20 минут;
- антеградную и ретроградную кардиоплегию охлажденным раствором внеклеточного типа Консол каждые 40 минут;
- антеградную и ретроградную высокообъемную кардиоплегию охлажденным раствором внутриклеточного типа Кустодиол каждые 3 часа.

Во время ИК основное внимание уделяли профилактике избыточной гемодилюции, в связи с чем проводили гемоконцентрацию. Подключение гемоконцентратора осуществлялось к фильтру артериальной магистрали контура аппарата ИК и венозному резервуару (рис. 2).



**Рис. 2.** Схема подключения гемоконцентратора к аппарату ИК

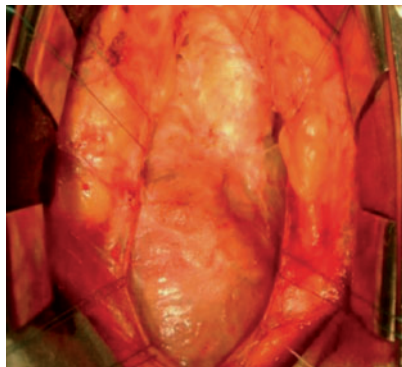
Объем ультрафильтрации во время ИК варьировал от 1100 до 5700 мл, в среднем  $2632 \pm 1431$  мл. У пациентов с функционирующим трансплантатом гемоконцентрация не проводилась, а с целью поддержания почечной перфузии и диуреза назначалась почечная доза допамина (3 мкг/кг/мин).

Наиболее ответственным считали завершающий этап ИК, когда необходимо было достичь максимально возможной нормализации уровня гемоглобина, общего белка, параметров кислотно-основного состояния и электролитного баланса. Перевод больных на самостоятельное кровообращение проводили на фоне умеренной гиповолемии, тем самым создавая «резерв» для последующей трансфузионной терапии, направленной прежде всего на нормализацию свертывающей системы крови. У пациентов с функционирующим трансплантатом на завершающем этапе поддерживали нормо- или умеренную гиперволемию (ЦВД 10–13 мм рт. ст.) с назначением мочегонных препаратов и контролем за темпом диуреза.

Постперфузионный период не имел каких-либо существенных особенностей, за исключением минимального объема гемотрансфузий и ограничения инфузионной терапии у гемодиализных пациентов. В отличие от обычных операций крайне сдержанно относились к коррекции содержания ионов калия в крови, стараясь поддерживать умеренную гипокалиемию (около 3,5 ммоль/л). Ни в одном наблюдении значимых гемодинамических, дыхательных, гомеостатических расстройств и выраженных нарушений гемостаза отмечено не было. Инотропная и вазоактивная терапия не имели специфических особенностей.

### ***Характер выполненных вмешательств***

Все операции в условиях ИК были выполнены из стандартного срединного доступа. Мы наблюдали 3 случая (7%) выраженного спаечного процесса в перикардиальной полости, с наличием плотных и рыхлых спаек, потребовавшего проведения тупым и острым путем кардиолиза у первично оперированных пациентов (рис. 3).



**Рис. 3.** Уремический перикардит у первично оперированного пациента

Характер выполненных операций коррекции пороков сердца представлен в табл. 6.

Таблица 6

### Характер выполненных операций коррекции пороков сердца

Операция	Число случаев (n = 43)
Пластика МК на опорном кольце	1
Изолированное одноклапанное протезирование (всего)	33
в том числе ПАК	16
в том числе в сочетании:	
– с АКШ и пластикой ТК по Бойду	1
– БАП и стентированием КА (двухэтапный метод)	2
– супракоронарным протезированием ВА	1
– пластикой МК по Вулеру	1
в том числе ПМК	17
– из них репротезирование МК	2
в том числе в сочетании:	
– с пластикой ТК по Де Вега	2
– пластикой ТК по Бойду	3
– АКШ	1
– БАП и стентированием КА (одновременный метод)	2
Двухклапанное протезирование (всего)	6
ПМК + ПАК	5
в том числе в сочетании:	
– с пластикой ТК по Бойду	2
– АКШ	1
– БАП и стентированием КА (одновременный метод)	1
– спленэктомией	1
ПМК + ПТК	1
Пластика АК и супракоронарное протезирование восходящей аорты в условиях гипотермии, циркуляторного ареста и ретроградной перфузии головного мозга	1
Пластика ДМПП	2

### Послеоперационное ведение

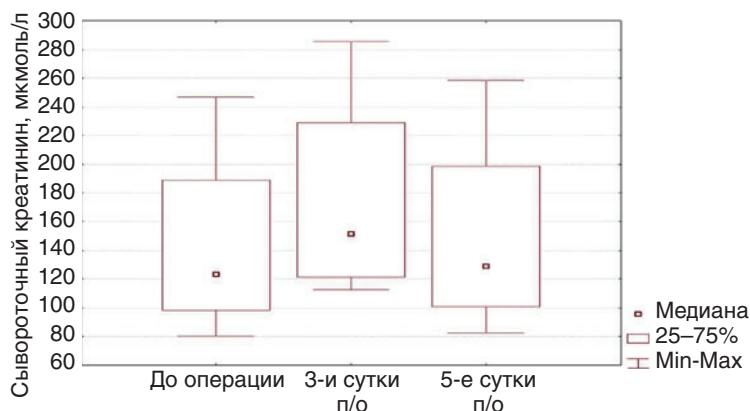
Гемодиализ проводили не позднее первых послеоперационных суток, продолжая ежедневное его проведение в течение 3 суток после операции с последующим переводом на стандартный режим заместительной почечной терапии. В связи со сниженной скоростью клубочковой фильтрации часть лекарственных препаратов, прежде всего антибиотики, вводили в уменьшенных дозах. Учитывая исходную анемию пациентов, не стремились к нормализации показателей красной крови без абсолютных показаний, при необходимости выполняли гемотрансфузию во время гемодиализа.

Пациентам с функционирующим почечным трансплантатом с целью поддержания достаточной его перфузии проводилось пролонгированное внутривенное введение допамина в течение первых 2 суток. Для поддержания адекватного диуреза назначались диуретики. Нефротоксичные препараты были исключены. У всех пациентов проводился постоянный мониторинг функции трансплантата по уровню креатинина.

## Анализ осложнений и непосредственных результатов операций

Из стационара в удовлетворительном состоянии было выписано 38 из 40 оперированных пациентов. Сроки пребывания в клинике варьировали от 7 до 103 суток (медиана = 33 суток).

При оценке почечной функции в послеоперационном периоде у пациентов с функционирующим трансплантатом в течение первых трех послеоперационных суток наблюдалось незначительное повышение креатинина, с восстановлением исходных значений к 5-м суткам после операции при сохранении достаточного темпа диуреза на фоне терапии мочегонными и применения почечных доз допамина (рис. 4).



**Рис. 4. Колебания периоперационного уровня креатинина у пациентов с функционирующим почечным трансплантатом**

Госпитальная летальность составила 4,7% (двое больных). Причинами летальных исходов стали полиорганная недостаточность и выраженные метаболические нарушения через 2 часа после операции и инфаркт миокарда по передней стенке левого желудочка на 4-е сутки после операции.

Развитие 16 нелетальных осложнений в госпитальном периоде наблюдалось у 14 (36,8 %) пациентов. Структура нелетальных осложнений представлена в табл. 7.

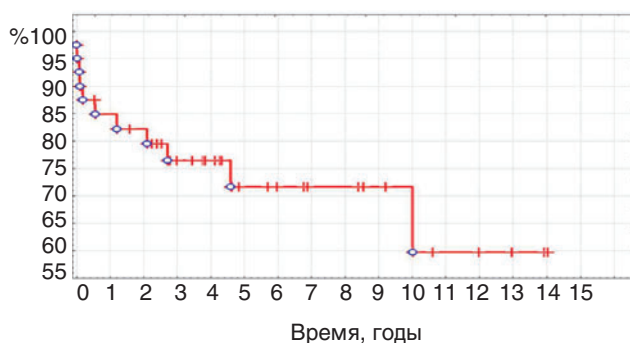
Таблица 7

**Структура нелетальных осложнений в госпитальном периоде**

Характер осложнения	Число случаев (n = 16)	%
Ранний протезный эндокардит	1	6,25
Кровотечение	4	25,0
Нарушение ритма	2	12,5
Гнойный перикардит	2	12,5
Экссудативный реактивный плеврит	2	12,5
Желудочно-кишечное кровотечение	1	6,25
Дисфункция трансплантата	2	12,5
Разрыв селезенки	1	6,25
Полиорганная недостаточность	1	6,25

**Отдаленные результаты коррекции пороков сердца**

В отдаленном периоде прослежена судьба 38 пациентов (94,6%) в сроки наблюдения до 14 лет (рис. 5).

**Рис. 5. Выживаемость оперированных пациентов (n = 38)**

Согласно данным диаграммы, построенной по методике Каплана–Мейера, однолетняя выживаемость составила 84,8%, трехлетняя – 76,4%, пятилетняя – 71,6% и 10-летняя 59,7%. В отдаленном периоде после операции на сердце умерло 10 пациентов, только одному из них была выполнена трансплантация почки. Причины и сроки летальных исходов представлены в табл. 8.

Из 4 больных, оперированных на сердце с функционирующим трансплантатом, умер только 1 больной через 10 лет после операции.

**В нашей серии пациентов удовлетворительные результаты после кардиохирургических операций позволили выполнить первичную или повторную трансплантацию почки у 14 пациентов.**

**Причины и сроки летальных исходов  
в отдаленном периоде (n = 10)**

Причина смерти	Сроки после операции на сердце (месяцы)
<b>Кардиальные</b>	
1. Кальциноз и дисфункция биологического протеза АК	14
2. ОНМК	2
3. Тромбэндокардит протеза АК	25
4. Тромбэндокардит протеза МК	7
5. Нарушения ритма	1,5
<b>Инфекционные</b>	
6. Полиорганная недостаточность на фоне сепсиса	70
7. Полиорганная недостаточность на фоне сепсиса (после трансплантации почки)	74
8. Уросепсис	119
<b>Прочие</b>	
9. Желудочно-кишечное кровотечение	3
10. Автоавария	56

Нами были применены два подхода:

- 1) выполнение трансплантации почки непосредственно после коррекции порока сердца (в течение 3–4-недельного срока) при наличии подготовленного живого родственного донора (2 наблюдения);
- 2) проведение трансплантации почки в отдаленном периоде после кардиохирургической операции, после подготовки и постановки в лист ожидания (12 наблюдений).



**Рис. 6. Выживаемость оперированных пациентов, перенесших трансплантацию почки (n = 14) и продолживших лечение программным гемодиализом (n = 24)**

Согласно данным диаграммы (рис. 6), построенной по методике Каплана–Мейера, однолетняя, трехлетняя и пятилетняя выживаемость пациентов, перенесших трансплантацию почки после операции на сердце, составила 100%, десятилетняя – 75%. В отдаленном периоде после повторной трансплантации почки умер один пациент.

Достоверно более низкая выживаемость была отмечена у больных, которые продолжили лечение программным гемодиализом после операции на сердце (Log-Rank Test,  $p = 0,01$ ); однолетняя выживаемость составила 74,8%, трехлетняя – 60,2%, пятилетняя и десятилетняя – 50,2%.

## ВЫВОДЫ

1. Основной причиной развития пороков сердца у пациентов, получающих заместительную почечную терапию, является инфекционный эндокардит, который диагностируется у 65% оперированных больных.
2. Тяжесть состояния больных с пороками сердца и терминальной стадией ХПН не является противопоказанием для проведения операции на сердце в условиях искусственного кровообращения. Исходная тяжесть состояния, помимо наличия порока сердца (98% пациентов имели III и IV ФК по NYHA и 100% – НК II А и II Б по Н.Д. Стражеско и В.Х. Василенко), определяется присутствием: уремии (90%), анемии (96%), артериальной гипертензии (75%), дисэлектримии (79%) и гипопротеинемии (63%).
3. Предоперационная подготовка должна включать коррекцию анемии, водно-электролитных нарушений, гипопротеинемии и модификацию схемы диализного лечения. Интраоперационное обеспечение диализных пациентов включает гемоконцентрацию во время искусственного кровообращения с переводом на самостоятельное кровообращение на фоне умеренной гиповолемии. У пациентов с функционирующим трансплантатом во время ИК необходимо поддерживать нормо- или умеренную гиперволемию.
4. Ведение данных больных согласно разработанному протоколу позволяет получить хорошие непосредственные результаты (госпитальная летальность 4,7%), что сопоставимо с результатами операций у обычной популяции больных. У реципиентов почечного трансплантата функция пересаженной почки после операции на сердце в условиях искусственного кровообращения не страдает.
5. Выполнение второго этапа лечения после операции на сердце – трансплантации почки – позволяет улучшить отдаленные результаты и качество жизни больных. Отдаленная выживаемость в данной группе пациентов через 10 лет оказалась достоверно выше показателей больных, продолживших лечение программным гемодиализом (Log-Rank Test,  $p = 0,01$ ) и составила 75%.

6. У пациентов, продолживших лечение гемодиализом, отдаленная выживаемость к 10 годам составила 50,2%. Основными причинами неблагоприятных исходов у диализных пациентов являются тромбэндокардит протеза и септические осложнения.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При подготовке к операции на сердце пациента, получающего заместительную почечную терапию программным гемодиализом или перитонеальным диализом, необходимо проведение коррекции исходных гомеостатических расстройств: анемии, гипопроотеинемии, гиперкалиемии и гиперволемии.
2. Предоперационная подготовка пациентов с функционирующим почечным трансплантатом не должна отличаться от подготовки пациентов с нормальной функцией почек.
3. При отсутствии сосудистого доступа необходима постановка двухпросветного венозного катетера и перевод пациентов, получающих перитонеальный диализ, на программный гемодиализ непосредственно перед операцией на сердце.
4. Интраоперационное обеспечение диализных пациентов должно включать проведение ультрафильтрации во время ИК с подведением пациента к завершающему этапу искусственного кровообращения в состоянии гиповолемии с целью создания резерва для последующей инфузионной терапии.
5. У реципиентов с функционирующим почечным трансплантатом ИК должно проводиться в состоянии нормо- или умеренной гиперволемии с поддержанием ЦВД 10–13 мм рт. ст. для обеспечения адекватной перфузии почечного трансплантата с контролем за темпом диуреза.
6. Послеоперационное ведение пациентов на программном гемодиализе и перитонеальном диализе должно включать ежедневное проведение сеансов программного гемодиализа в течение первых 3 послеоперационных суток с последующим переводом на стандартный режим заместительной почечной терапии.
7. При коррекции послеоперационной анемии трансфузия компонентов крови должна проводиться во время сеанса программного гемодиализа с целью профилактики гиперкалиемии.
8. При удовлетворительных результатах операции на сердце необходимо дальнейшее мониторирование данных пациентов с целью проведения второго этапа коррекции сочетанной патологии – порока сердца и терминальной стадии ХПН – трансплантации почки.



## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Шумаков В.И., Семеновский М.Л., Соколов В.В., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А., Акопов Г.А.* Результаты оперативного лечения приобретенных пороков сердца у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, находящихся на программном гемодиализе // *Материалы 13-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов.* – М., 2007. – С. 33.
2. *Шумаков В.И., Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Акопов Г.А., Белокуров Д.А.* Современный подход к хирургическому лечению приобретенных пороков сердца у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, находящихся на программном гемодиализе // *Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Высокие медицинские технологии».* – Москва, 2007.
3. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Акопов Г.А., Белокуров Д.А.* Разработка протокола операций в условиях искусственного кровообращения у больных с пороками сердца в терминальной стадии хронической почечной недостаточности, находящихся на программном гемодиализе // *Материалы 14-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов.* – М., 2008. – С. 34.
4. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А., Акопов Г.А.* Современный подход к хирургическому лечению приобретенных пороков сердца у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, находящихся на программном гемодиализе // *Материалы IV Всероссийского съезда трансплантологов памяти академика В.И. Шумакова.* – М., 2008. – С. 64.
5. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А., Акопов Г.А.* Хирургическое лечение пороков сердца у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности и реципиентов почечного трансплантата. Разработка протокола операции и послеоперационного ведения // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – № 3. – 2009. – С. 96–102.
6. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А.* Клапанный инфекционный эндокардит при терминальной стадии хронической почечной недостаточности и программном гемодиализе. Активная хирургическая тактика // *Материалы Всероссийской конференции «Инфекция в трансплантологии».* М., 2009. – С. 121.
7. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А., Акопов Г.А.* Хирургическая тактика у больных с терминальной стадией ХПН и поражением клапанов сердца // *Материалы 15-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов.* – М., 2009. – Т. 10, № 6. – С. 50.
8. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А.* Трансплантация почки у больных с оперированными пороками клапанов сердца на программном гемодиализе // *Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов.* – М., 2010. – С. 99.
9. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А., Акопов Г.А.* Тактика клапанной хирургии у пациентов с терминальной стадией ХПН и реципиентов

почечного трансплантата // *Материалы 16-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов.* – М., 2010. – С. 24.

10. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Акопов Г.А., Белокуров Д.А.* Протокол двухэтапного лечения больных с пороками сердца и ХПН // *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева. Тезисы 17-го съезда сердечно-сосудистых хирургов.* – Т. 12, № 6. – С. 25.
11. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А.* Двухэтапный хирургический подход у больных терминальной стадией хронической почечной недостаточности и пороками сердца.
12. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А.* Трансплантация почки и протезирование клапанов у пациентов с пороками сердца и ХПН // *Материалы VI Всероссийского съезда трансплантологов.* – Т. XIV. Огр. 225. – 2012.
13. *Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г., Белокуров Д.А.* Коррекция пороков сердца в условиях ИК до и после трансплантации почки // *Материалы 18-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов.* – Т. 13, № 6. – С. 33.
14. *Белокуров Д.А., Семеновский М.Л., Мойсюк Я.Г.* Коррекция пороков сердца у пациентов после трансплантации почки // *Вестн. трансплант. и искусственных органов.* – № 4. – 2013. – С. 64–69.

**Пономарева Анна Сергеевна**

## **РАЗРАБОТКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ**

**14.01.24 – трансплантология и искусственные органы**

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

**Москва – 2013**

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

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук,  
профессор

**Севастьянов Виктор Иванович**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность работы**

Современные потребности в трансплантации существенно ограничиваются нехваткой донорских органов, и прогнозы указывают на то, что потребность в донорских органах и тканях будет только увеличиваться. Следовательно, актуальной остается задача разработки альтернативных способов компенсации или замены поврежденных или утраченных жизненно важных функций органов и тканей. Анализ последних работ в области трансплантологии и искусственных органов дает основание говорить о том, что ученые пока не пришли к формированию искусственной биосовместимой поверхности, аналогичной по своим свойствам естественным тканям организма. Исследователи также далеки от создания искусственных органов на основе только синтетических материалов с заданными и контролируруемыми свойствами. В связи с этим в последние годы основной акцент сделан на использование технологий тканевой ин-

женерии – междисциплинарной области исследований, которая включает разработку биоискусственных тканей и органов – материалов и систем, наделенных структурой и функцией биологических тканей (Atala A. et al., 2008).

Одним из подходов к восстановлению трехмерной структуры ткани может быть формирование ее тканеинженерной конструкции (ТИК) на основе клеточно-инженерной конструкции (КИК), включающей в себя следующие компоненты:

- клетки, выделенные из эндогенных источников у пациента (аутологичные клетки) или от доноров (аллогенные клетки) и способные формировать функционирующий внеклеточный матрикс (ВКМ);
- подходящий биосовместимый биodeградируемый носитель (матрикс, каркас) для трансплантации клеток и временного биоискусственного матрикса;
- биоактивные молекулы (цитокины, факторы роста), которые оказывают биостимулирующее действие на клетки поврежденной ткани.

Лечение дефектов суставного хряща представляет собой сложную ортопедическую проблему, т. к. регенерация гиалинового хряща крайне незначительна. Отсутствие кровоснабжения и низкий уровень метаболизма из-за малого количества клеток в единице объема ткани приводят к тому, что полноценная репаративная регенерация хряща возможна лишь при небольших по площади повреждениях (Melero-Martin J. et al., 2007). При обширных повреждениях хрящевой ткани (ХТ), сопровождающихся разрушением надхрящницы, регенерацию хрящевой ткани опережает развитие грануляционной ткани в месте дефекта (Мазуров В.И., 2008).

Применение таких техник, как стимуляция костного мозга, субхондральное просверливание кости, микропереломы и попытка закрытия дефекта надкостничными или перихондриальными трансплантатами, не всегда приводит к приемлемым результатам (Деев Р.В., 2006). Немного улучшило ситуацию применение аутохондротрансплантации. Однако этот метод также не лишен недостатков, основные из которых – травматичность биопсии здорового участка хряща, сложность культивирования хондроцитов и неполнота восстановления хрящевой ткани. В связи с этим в качестве альтернативы данному методу были рассмотрены варианты замены хондроцитов на мезенхимальные стромальные клетки (МСК), которые присутствуют во всех органах и тканях человеческого организма и обладают мультилинейным потенциалом дифференцировки в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях. Одним из перспективных источников МСК благодаря простоте технологии выделения, достаточному выходу клеток и минимальной травматичности для пациента является жировая ткань (Zuk P.A. et al., 2001).

Применение подходов клеточной и тканевой инженерии, заключающихся в трансплантации МСК на матриксах-носителях, представляет собой перспективный способ лечения дефектов хряща с использованием функциональных тканевых заменителей. Основная цель применения матриксов – это доставка и удержание клеток в месте повреждения, а также обеспечение клеткам необходимого трехмерного окружения для формирования хрящевой ткани (Севастьянов В.И. и др., 2011).

## **Цель работы**

Разработать и провести исследования в условиях *in vitro* и *in vivo* клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека.

## **Основные задачи работы**

1. Отработать методики выделения и культивирования МСК из жировой ткани человека (ЖТч).
2. Исследовать параметры роста, провести анализ экспрессии поверхностных антигенов и кариотипический анализ полученных из ЖТч популяций МСК.
3. Подтвердить способность полученных из ЖТч культур МСК дифференцироваться в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях.
4. Разработать технологию культивирования МСК ЖТч на биополимерном гетерогенном гидрогеле в условиях *in vitro*.
5. Разработать и исследовать в условиях *in vivo* клеточно-инженерные конструкции на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и МСК ЖТч с различной степенью хондрогенной дифференцировки.
6. Исследовать биологическую безопасность выбранной клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани в экспериментальной модели подкожной имплантации в условиях *in vivo*.
7. Изучить морфологические изменения клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани в условиях *in vitro* и *in vivo* в экспериментальной модели подкожной имплантации.

Настоящая работа проводилась в соответствии с планом научных исследований ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» на 2009–2011 гг. по направлению «Разработка и внедрение клеточных трансплантационных технологий для лечения широкого круга патологий» и государственному заданию Минздрава на 2012–2014 гг. по теме НИР «Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерной конструкции хряща» (регистр. номер 01201251421).

## Научная новизна работы

1. Впервые показана способность биополимерного гетерогенного гидрогеля служить субстратом для культивирования, пролиферации и дифференцировки в хондрогенном направлении МСК ЖТч.
2. Исследовано влияние степени хондрогенной дифференцировки МСК ЖТч на возможность формирования в условиях *in vitro* ТИК хрящевой ткани из клеточно-инженерной конструкции, состоящей из биополимерного гетерогенного гидрогеля и МСК ЖТч.
3. Получены доказательства биологической безопасности разработанной КИК ХТ в условиях *in vivo*.
4. Впервые показана возможность формирования тканеинженерной конструкции ХТ при подкожной имплантации клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и недифференцированных МСК ЖТч.

## Практическая значимость

Основным результатом работы является разработка лабораторных образцов КИК хрящевой ткани и экспериментальных основ нового высокотехнологического метода коррекции и лечения заболеваний периферических и/или центральных (позвоночных) суставов, включая:

- протокол культивирования МСК ЖТч на биополимерном гетерогенном гидрогеле;
- протокол получения КИК ХТ, состоящей из биополимерного гетерогенного гидрогеля, МСК ЖТч и индукционной хондрогенной среды;
- протоколы экспериментальных исследований КИК хрящевой ткани. Полученные результаты позволяют перейти к доклиническим исследованиям функциональной эффективности разработанной КИК ХТ на экспериментальных моделях заболеваний периферических и/или центральных (позвоночных) суставов.

## Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 49-й конференции МФТИ (г. Долгопрудный, 24–25 ноября 2006 г.), Moscow-Bavarian Joint Advanced Student School (г. Зеленоград, 25 февраля – 5 марта 2008 г.), Всероссийской школе-конференции «Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные и клинические исследования» (г. Москва, 21–26 сентября 2009 г.), X и XII Китайско-Российском симпозиуме «Новые материалы и технологии» (Китай, г. Дзясин, 20–24 октября 2009 г., Китай, г. Куньмин, 18–21 ноября 2013 г.), V Всероссийском съезде трансплантологов (г. Москва, 8–10 октября 2010 г.), III, IV и V Всероссийской научно-практической конференции «Стволовые клетки и реген-

неративная медицина» (г. Москва, 25–28 октября 2010 г., 24–27 октября 2011 г., 17–22 ноября 2013 г.), Школе-конференции для молодых ученых «Клеточные технологии для регенеративной медицины» (г. Санкт-Петербург, 17–21 октября 2011 г.).

По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 статья – в зарубежном журнале, 6 статей – в сборниках научных трудов и одна глава – в книге «Биосовместимые материалы (учебное пособие)» под ред. В.И. Севастьянова и М.П. Кирпичникова, МИА, М., 2011 г.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 117 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав основного содержания, включая обзор литературы, методическую главу, результаты исследования и их обсуждение, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 110 наименований, из них 25 российских и 85 иностранных. Диссертация иллюстрирована 29 рисунками и 14 таблицами.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа выполнена в лаборатории тканевой инженерии и систем доставки ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России.

### **Выделение и культивирование МСК из ЖТч**

На основе методики, описанной Zuk P.A. et al. (2001), была отработана и оптимизирована технология выделения и культивирования МСК из жировой ткани (подкожно-жировой клетчатки) человека. Образцы подкожно-жировой клетчатки получены от 30 здоровых доноров ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России (получено информированное согласие). ЖТч отмывали от крови фосфатным буфером с антибиотиками и механически измельчали до получения гомогенной массы, которую затем обрабатывали раствором коллагеназы Type IA (Sigma, # C98891, США) из расчета 600 ед/г ткани. Для выделения и культивирования МСК использовали ростовую среду (РС) для мезенхимальных стволовых клеток человека MesenPRO RS™ без глутамина (Gibco® by Life Technologies™, США), с ростовыми добавками MesenPRO RS™ Growth Supplement и антибиотиками, сбалансированные солевые растворы (фосфатно-солевой буферный раствор, сбалансированный солевой раствор Хенкса). Культивирование проводили в стандартных условиях при температуре 37 °С во влажной атмосфере, содержащей  $(5 \pm 1) \% \text{CO}_2$ . Анализ клеток проводили с помощью фазово-контрастной и световой микроско-

пии, при необходимости докрашивая клетки йодистым пропидием, кристаллическим фиолетовым или по Гимзе.

## **Исследование ростовых, цитогенетических и иммунофенотипических характеристик популяций МСК, полученных из ЖТч**

Для построения кривой роста использовали 10%-ный раствор витального реагента alamarBlue® (Invitrogen™, США). Процент восстановленного alamarBlue® характеризует метаболическую активность клеток. После инкубации с красителем изменение поглощения среды регистрировали с помощью комбинированного ридера для микропланшет Synergy™2, модель SLFPA (Bio Tec Instruments Inc., США), на длинах волн 570 нм и 600 нм. В качестве контроля использовали ростовую среду без клеток с добавлением alamarBlue®. Для пересчета процента восстановленного красителя в количество клеток в лунке строили калибровочную кривую.

Для исследования колониеобразующей способности МСК ЖТч культивировали в ростовой среде в 6-луночных планшетах при плотности посева 400–12,5 кл/см<sup>2</sup>, полученной методом последовательных разведений.

Подготовку проб для цитогенетического анализа проводили по стандартной методике с использованием раствора колхицина. Хромосомные препараты визуализировали окрашиванием по Гимзе.

Для иммуноцитологической оценки суспензию МСК окрашивали мышиными моноклональными антителами против 13 поверхностных антигенов, меченных флюоресцеинизотиоцианатом (ФИТС) или фикоэритрином (ФЭ). После этого клетки анализировали на проточном цитометре FACScan (Becton Dickinson, США) с помощью программы FACScan Research. Фенотип МСК ЖТч исследовали на протяжении 5 пассажей.

## **Исследование дифференцировочного потенциала МСК ЖТч**

Способность МСК к дифференцировке в клетки мезодермального ряда и специфическое гистохимическое окрашивание проводили на 2-м или 3-м пассажах. Для индукции дифференцировки использовали коммерческие наборы StemPro® Adipogenesis Differentiation Kit, StemPro® Osteogenesis Differentiation Kit и StemPro® Chondrogenesis Differentiation Kit (Gibco® by Life Technologies™, США). Хондрогенную дифференцировку в условиях *in vitro* осуществляли двумя способами: в монослое и в соответствии с инструкцией производителя в 3D-культуре методом «микросфер». Наличие дифференцировки подтверждали специфическим окрашиванием: масляным красным О в случае адиподифференцировки,



ализариновым красным в случае остеодифференцировки, альциановым синим по методу Маллори и антителами к коллагену II типа в случае хондродифференцировки.

## **Иммобилизация и культивирование МСК ЖТч в биополимерном гетерогенном гидрогеле**

В качестве биodeградируемого матрикса использовали биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ (производитель ЗАО «БИОМИР сервис», г. Краснознаменск, М.О., № ФСР 2012/13033 от 01.02.2012 г.). БГГ Сферо®ГЕЛЬ изготовлен на основе компонентов внеклеточного матрикса тканей сельскохозяйственных животных, обладает высокими биосовместимыми и биостимулирующими свойствами и предназначен для замещения дефектов мягких тканей, включая применение в заместительной и регенеративной медицине (Перова В. и др., 2003; Севастьянов В.И. и др., 2009, 2011, Шагидулин М.Ю. и др., 2012, 2013; Готье С.В. и др., 2013).

Было проведено 2 серии экспериментов по иммобилизации и культивированию МСК ЖТч на поверхности биополимерного гетерогенного гидрогеля в условиях *in vitro*:

1. Гистологическая оценка препаратов, полученных после посева различных количеств МСК ЖТч, 3-й пассаж ( $1 \times 10^6$  кл/мл,  $2 \times 10^6$  кл/мл,  $4 \times 10^6$  кл/мл гидрогеля) на БГГ через 3 и 7 суток культивирования.
2. Оценка пролиферативной активности МСК ЖТч, 3-й пассаж на БГГ с использованием витального реагента prestoBlue® (Invitrogen, США), обновленной версией красителя alamarBlue® с аналогичным принципом действия, через 24, 48 и 72 ч после посева  $2 \times 10^6$  кл/мл гидрогеля.

МСК ЖТч послойно смешивали с предварительно прогретым до  $37^\circ\text{C}$  биополимерным гетерогенным гидрогелем и инкубировали в РС в стандартных условиях. Замену среды проводили каждые 3 суток.

## **Определение оптимального состава КИК хрящевой ткани**

Исследовали 3 различных варианта получения КИК хрящевой ткани. Вариант 1. Преддифференцированные в хондрогенном направлении в течение 7 суток в монослое МСК ЖТч послойно смешивали с предварительно прогретым до  $37^\circ\text{C}$  биополимерным гетерогенным гидрогелем в концентрации  $2 \times 10^6$  кл/мл матрикса.

Вариант 2. Преддифференцированные в хондрогенном направлении методом «микросфер» МСК ЖТч смешивали с прогретым до  $37^\circ\text{C}$  биополимерным гетерогенным гидрогелем (20 микросфер/мл матрикса).

Вариант 3. Недифференцированные МСК ЖТч послойно смешивали с биополимерным гетерогенным гидрогелем в концентрации  $2 \times 10^6$  кл/мл матрикса.

КИК ХТ культивировали в индукционной хондрогенной среде 14 и 28 суток при 37 °С, во влажной атмосфере, содержащей (5 ± 1)% CO<sub>2</sub>. Замену среды осуществляли каждые 3 суток. 3-й вариант клеточно-инженерной конструкции ХТ культивировали в тех же условиях до 42 суток.

## **Подкожная имплантация КИК хрящевой ткани**

Клеточно-инженерные конструкции ХТ на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и недифференцированных МСК ЖТч имплантировали подкожно 14 мышам-самцам линии DBA. Все животные были разделены на две группы: опытную (10 мышей) и контрольную (4 мыши). Контрольной группе имплантировали только БГТ без клеток. За сутки до имплантации всех мышей депрессировали иммуностатическим препаратом «Сандимун» (циклоспорин). В дальнейшем иммуносупрессию не проводили. Через 14 и 28 суток после имплантации животных выводили из эксперимента, а место имплантации вместе с имплантатом фиксировали в 10% растворе формалина и направляли на гистологическое исследование. Оценку состояния животных проводили в течение эксперимента по интегральным показателям (выживаемость, поведение и внешний вид, функциональное состояние, динамика массы тела, клинический и биохимический анализ крови).

Исследование КИК ХТ, полученных в условиях *in vitro* и *in vivo*, проводили с помощью гистологических и иммуногистохимических методов. Образцы фиксировали в 10% растворе формалина в течение 4 ч, промывали в проточной воде и обезвоживали в этаноле с восходящими концентрациями, обезжиривали в смеси абсолютного этанола с хлороформом или ксилолом и заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм получали с помощью микротомы Leica (модель RM 3255, Германия). Срезы депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим, по методу Маллори и антителами к коллагену II типа согласно стандартным методикам.

В выполнении отдельных этапов работы принимали участие сотрудники молекулярно-генетической лаборатории ГУЗ «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», лаборатории трансплантационной иммунологии и лаборатории клеточной трансплантации ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий».

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Характеристики популяций МСК ЖТч**

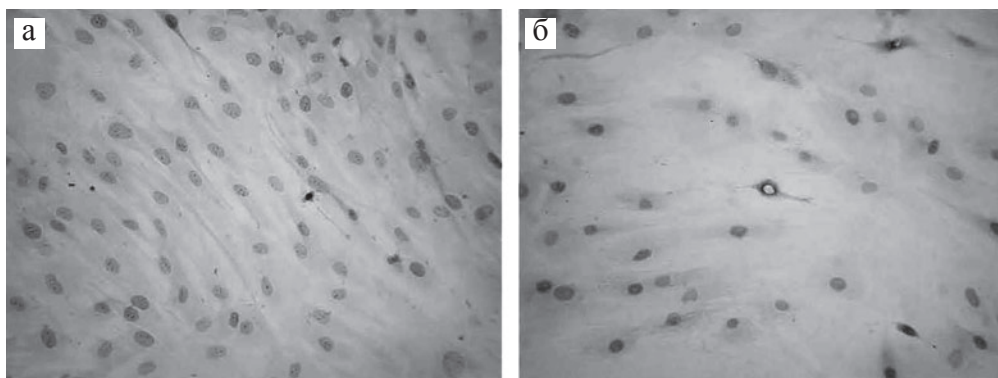
На основе методики, описанной Zuk P.A. et al. (2001), была отработана технология выделения и культивирования МСК из ЖТч. Методика заключалась в сочетании механической и ферментативной дезагрегации образцов подкожно-жировой клетчатки (операционный материал) и была

оптимизирована по следующим параметрам: время инкубации ткани с коллагеназой Туре IA и количество циклов обработки. При использовании оптимизированной методики удалось повысить выход клеток с 70 до 300 тыс. клеток/гр. ткани при 95% жизнеспособности. Проведенные эксперименты с использованием в качестве источника МСК подкожно-жировой клетчатки 30 доноров показали воспроизводимость технологии.

На первых пассажах культуры МСК являются морфологически гомогенными по клеточному составу и представлены клетками веретеновидной или полигональной формы с небольшим количеством отростков (рис. 1, а).

Пролиферативный потенциал МСК сохранялся как минимум до 9-го пассажа. С увеличением числа пассажей рост культур существенно замедлялся. Начиная с 10-го пассажа наблюдали старение культур, появление вакуолизированных, полиплоидных и двухъядерных клеток, клеток на различных стадиях деструкции (рис. 1, б).

За один пассаж количество клеток в культуре увеличивалось в 2,5–3,0 раза. Продолжительность каждого пассажа составляла от 9 до 15 суток в зависимости от пролиферативной способности клеток.



**Рис. 1. Культура МСК ЖТч: а – 2-й пассаж; б – 10-й пассаж. Окрашивание гематоксилином.  $\times 200$**

На 1, 2 и 3-м пассажах строили кривые роста (рис. 2). Из кривых роста видно, что пролиферативная способность культуры значительно снижается во втором пассаже и продолжает снижаться при дальнейшем культивировании. Время цитогенерации составило 47, 89 и 100 ч в первом, втором и третьем пассаже соответственно, среднее время удвоения популяции – 64 ч.

Цитогенетический анализ культуры на 2, 4 и 7-м пассажах показал отсутствие анеуплоидии и структурных перестроек хромосом, кариотип клеток не меняется во время долгосрочного культивирования.

Способность культуры клеток образовывать колонии является одним из косвенных признаков «стволовости» выделенных клеток. Колонией считали клеточное образование с радиальным ростом, содержащее более

50 клеток. Эксперименты на клоногенность проводили 8 раз, и только однажды были обнаружены колонии через 2 недели культивирования при различной плотности посева клеток во втором пассаже.

Иммуноцитофлюориметрический анализ показал, что МСК ЖТч имеют следующий фенотип: CD10+, CD13+, CD29+, CD34-, CD44+, CD45-, CD59+, CD71-, CD73+, CD90+, CD105+, CD133-, HLA-ABC+, что соответствует фенотипу мезенхимальных стромальных клеток, и сохраняют его в течение как минимум 5 пассажей (табл. 1).

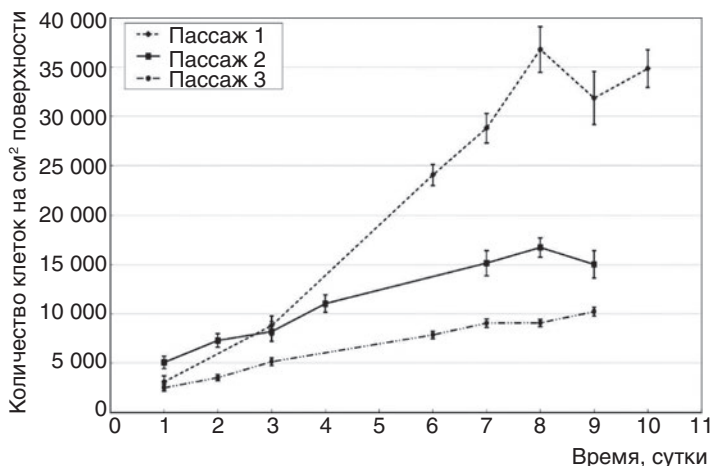


Рис. 2. Кривые роста МСК ЖТч на 1, 2, и 3-м пассажах

Таблица 1

Фенотип МСК, выделенных из ЖТч, на протяжении 1–5-го пассажей

	1 (n = 3)	2 (n = 4)	3 (n = 3)	4 (n = 3)	5 (n = 3)
CD10	58,9 ± 28,1	65,7 ± 20,8	55,0 ± 21,5	67,5 ± 12,3	76,2 ± 11,5
CD13	69,5 ± 23,0	75,1 ± 13,2	79,0 ± 14,5	87,3 ± 5,7	88,1 ± 11,9
CD29	83,9 ± 12,9	78,8 ± 19,7	81,4 ± 18,7	92,6 ± 6,4	94,2 ± 2,2
CD34	5,7 ± 4,3	3,8 ± 2,8	1,2 ± 0,5	2,8 ± 2,4	2,3 ± 1,6
CD44	87,8 ± 9,3	88,8 ± 13,1	81,0 ± 17,8	95,4 ± 0,8	91,9 ± 3,5
CD45	2,4 ± 1,7	1,3 ± 1,0	0,8 ± 0,8	3,1 ± 0,8	1,6 ± 0,6
CD59	94,4 ± 7,7	91,6 ± 13,6	82,2 ± 16,9	97,4 ± 0,3	93,9 ± 3,7
CD71	2,8 ± 1,1	9,9 ± 13,4	3,3 ± 2,4	2,7 ± 0,6	6,4 ± 4,8
CD73	н/о	н/о	н/о	79,9**	77,0**
CD90	85,6 ± 13,3	78,4 ± 18,8	81,8 ± 15,6	90,3 ± 5,2	85,9 ± 1,7
CD105	88,2 ± 11,4	88,5 ± 16,6	82,5 ± 14,9	97,6 ± 2,2	96,1 ± 4,1
CD133	3,9 ± 2,2	„, ** 0,6	1,2 ± 0,4	2,2 ± 0,1	1,5**
HLA-ABC	81,2 ± 7,8	87,2 ± 19,2	72,7 ± 18,3	91,7 ± 7,3	83,3 ± 3,7

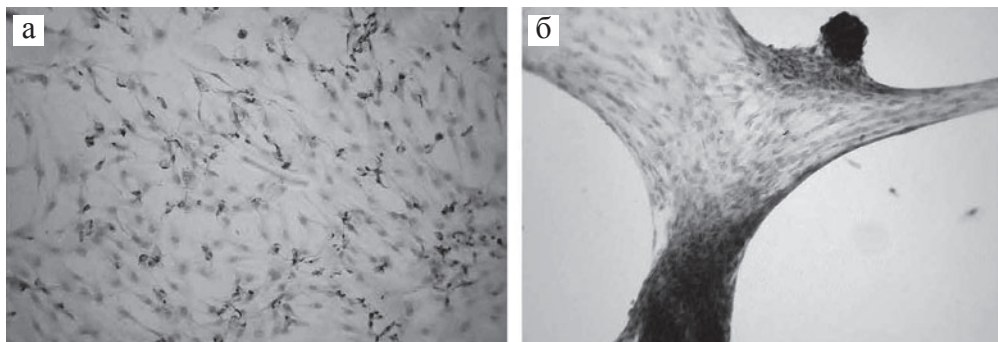
Примечание. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение полученного для числа доноров n, указанных в скобках; \*\*Данные представлены по одной культуре; н/о – экспрессию антигена не определяли.

## Дифференцировочный потенциал МСК ЖТч

Способность МСК ЖТч к адипогенной дифференцировке изучали, индуцируя ее адипогенными факторами на 2-м и 3-м пассажах. Через 3 суток после добавления к культуре индукционной адипогенной среды в некоторых клетках появились первые жировые включения. При дальнейшем культивировании в дифференцировочной среде количество таких клеток нарастало, и к 14-м суткам почти все клетки содержали жировые капли, становились крупными, распластанными.

Остеогенную дифференцировку МСК ЖТч проводили на 2-м пассаже в течение 28 суток. На начальных сроках инкубации клеток с дифференцировочной средой явных морфологических признаков дифференцировки в остеогенном направлении обнаружено не было. В дальнейшем МСК группировались в плотные узелки. Наличие окрашенных ализариновым красным участков указывает на кальцификацию матрикса и подтверждает остеогенную дифференцировку клеток.

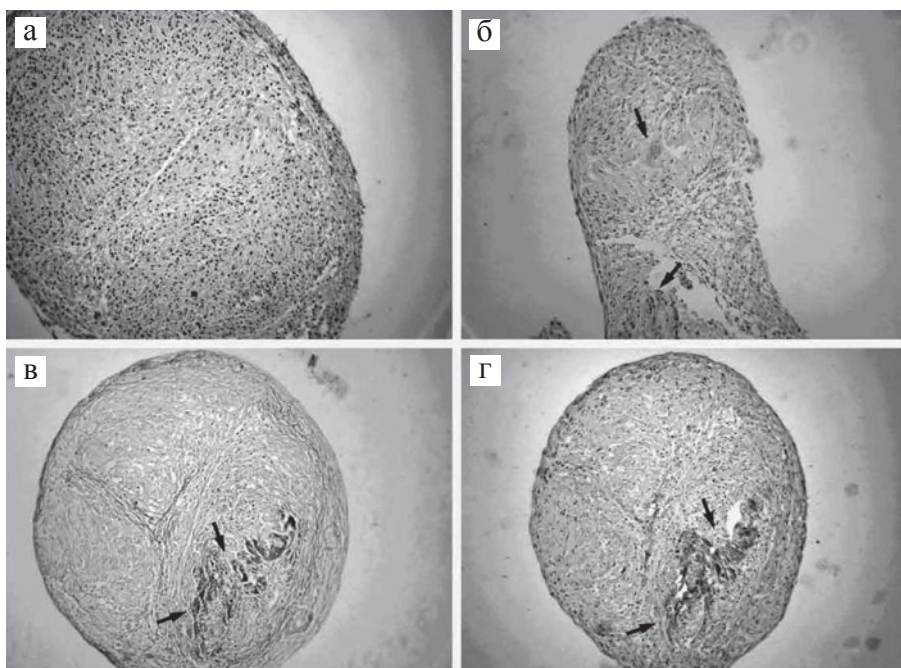
На рис. 3 представлена культура МСК ЖТч через 7 суток хондрогенной дифференцировки в монослое. Было обнаружено, что при таких условиях культивирования часть клеток претерпевает дегенеративные изменения и погибает (рис. 3, а), часть остается жизнеспособными. Наблюдаются участки монослоя, которые в индукционной хондрогенной среде преобразуются в трехмерные структуры (рис. 3, б). В контроле МСК ЖТч представлены жизнеспособными фибробластоподобными клетками, трехмерных структур не образуется.



**Рис. 3. После 7 суток хондрогенной дифференцировки МСК ЖТч в монослое, 2-й пассаж. Окрашивание гематоксилином.  $\times 200$**

При хондрогенной дифференцировке МСК ЖТч в 3D-культуре методом «микросфер», через 5 суток в индукционной среде МСК образовывали трехмерные структуры в виде непрозрачных «микросфер» диаметром  $\sim 1$  мм. Гистологическая оценка полученных структур показала, что микросферы на 5-е сутки дифференцировки имеют рыхлую неоформленную структуру

и не дают специфического окрашивания по методу Маллори на коллаген и альциановым синим на гликозаминогликаны (ГАГ). Уже через 7 суток дифференцировки периферия каждой микросферы представлена 1–2 слоями фибробластоподобных жизнеспособных клеток, появляются тонкие волокна коллагена и сине-зеленое окрашивание, характеризующее появление ГАГ во внеклеточном матриксе. Через 10 суток наблюдается прогрессивное вращение фибробластоподобных клеток внутрь микросфер и заполнение ими центральной части, заметное и явное увеличение коллагеновых волокон, а также ГАГ. Через 14 суток хондрогенной дифференцировки МСК ЖТч (рис. 4, а) наблюдается прогрессивное образование ГАГ (рис. 4, б), коллагена (рис. 4, в), в сферах появляются отдельные локусы, заполненные внеклеточным матриксом, синтезированным клетками, составляющими микросферу. Матрикс в поверхностной зоне представлен пучками коллагеновых волокон, расположенных параллельно поверхности микросферы, что характерно для нормальной хрящевой ткани. Иммуногистохимическое окрашивание антителами показало, что коллагеновые волокна в микросферах являются коллагеном II типа – основной тип коллагена хрящевой ткани (рис. 4, г).



**Рис. 4.** Хондрогенная дифференцировка МСК ЖТч (указано стрелками) в 3D-культуре (микросферы), 14 суток: а – окрашивание гематоксилином и эозином; б – окрашивание альциановым синим на гликозаминогликаны; в – окрашивание на коллаген по методу Маллори; г – иммуногистохимическое окрашивание антителами к коллагену II типа.  $\times 200$

## Иммобилизация и культивирование МСК ЖТч в гетерогенном биополимерном гидрогеле в условиях *in vitro*

Гистологическая оценка препаратов, полученных после посева различных количеств МСК ЖТч на БГГ Сферо®ГЕЛЬ через 3 суток культивирования показала, что при посеве  $1 \times 10^6$  кл/мл гидрогеля прикрепленных жизнеспособных клеток в препаратах не наблюдается, при посеве  $2 \times 10^6$  кл/мл,  $4 \times 10^6$  кл/мл на гистологических препаратах визуализируются единичные фибробластоподобные жизнеспособные клетки, также присутствуют округлые вакуолизированные клетки на разных стадиях дегенерации. Через 7 суток культивирования адгезированные фибробластоподобные жизнеспособные МСК присутствуют во всех образцах, их количество увеличивается. Полученные данные позволяют сделать вывод, что не все клетки адгезируют на БГГ Сферо®ГЕЛЬ, адгезированные МСК ЖТч жизнеспособны и пролиферируют. Оптимальной концентрацией для посева была выбрана  $2 \times 10^6$  кл/мл.

В табл. 2 представлены значения, соответствующие процентам восстановленного реагента prestoBlue®. Процент восстановленного prestoBlue® характеризует пролиферативную активность МСК.

Таблица 2

### Значения метаболической активности МСК ЖТч в процессе культивирования в биополимерном гетерогенном гидрогеле Сферо®ГЕЛЬ

Образец	24 ч	48 ч	72 ч
Культуральный пластик, %	21,4 ± 1,2	30,2 ± 1,3	56,1 ± 3,2
БГГ, %	20,4 ± 2,0	22,6 ± 2,5	29,5 ± 4,1

Из полученных данных видно, что через 24 ч культивирования пролиферативная активность МСК в БГГ сопоставима с культуральным пластиком. Через 48 ч и 72 ч пролиферативная активность МСК на поверхности культурального пластика существенно выше, чем в БГГ, это можно объяснить тем, что часть клеток, как было показано в предыдущей серии экспериментов, не прикрепилась к матриксу. Через 48 ч и 72 ч в системе БГГ + МСК наблюдается положительная динамика, клетки жизнеспособны и пролиферируют на поверхности матрикса.

## Морфологические изменения КИК хрящевой ткани в условиях *in vitro*

В гистологических препаратах КИК ХТ, состоящей из преддифференцированных в хондрогенном направлении в течение 7 суток в монослое МСК ЖТч, смешанных с биополимерным гетерогенным гидрогелем ( $2 \times$

$10^6$  кл/мл геля), через 14 суток инкубации в хондрогенной среде наблюдали прорастание клеток в гель и образование волокнистого внеклеточного матрикса, присутствуют деструктивные изменения клеток. К 28 суткам культивирования КИК в данных условиях наблюдали сфероидные образования, состоящие из клеток и внеклеточного матрикса, напоминающие микросферы. Однако на данном сроке в гистологических срезах отсутствуют жизнеспособные клеточные элементы, визуализируется грубодисперсный детрит.

В гистологических препаратах КИК ХТ, состоящей из преддифференцированных в хондрогенном направлении методом «микросфер» МСК ЖТч, помещенных в биополимерный гетерогенный гидрогель ( $20$  микросфер/мл матрикса), через 28 суток хондрогенной дифференцировки отсутствуют жизнеспособные клеточные элементы, визуализируется грубодисперсный детрит. Несмотря на то что при дифференцировке методом «микросфер» было показано, что МСК ЖТч продуцируют компоненты внеклеточного матрикса, характерные для хрящевой ткани, и количество внеклеточного матрикса увеличивается во времени, культивирование в БГГ не привело к образованию жизнеспособных хрящеподобных структур.

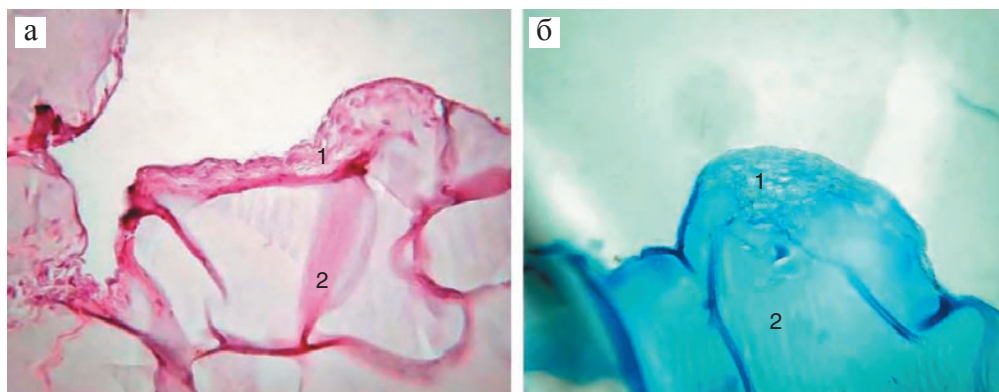
Через 14 суток инкубации в хондрогенной среде КИК ХТ, состоящей из недифференцированных МСК ЖТч, смешанных с биополимерным гетерогенным гидрогелем в концентрации  $2 \times 10^6$  кл/мл геля, через 14 суток наблюдали образование трехмерных структур размером  $\sim 6$  мм. Результаты гистологической оценки полученных структур показали, что через 14 суток в толще биополимерного матрикса присутствуют клетки с различными морфологическими характеристиками: фибробластоподобные с вытянутым ядром и овальные с округлым ядром (рис. 5, а), точно установить тип клеток затруднительно. Показано образование собственного внеклеточного матрикса, имеющего волокнистую структуру, коллагеновая природа которого подтверждается при специфическом окрашивании по методу Маллори (рис. 5, б). Через 28 суток количество клеток овальной формы с округлым ядром в срезах значительно увеличивается, клеточная популяция становится более однородной, встречаются хондробластоподобные клетки. Обнаружено заметное увеличение количества ВКМ, вырабатываемого клетками в процессе культивирования. Собственный внеклеточный матрикс имеет волокнистую структуру (рис. 6, а, б).

К сожалению, на сроках 14 и 28 суток нам не удалось выявить наличия коллагена II типа в полученных конструкциях, возможно, вследствие недостаточного количества клеток или слишком малого времени дифференцировки.

К 42-м суткам инкубации КИК ХТ в хондрогенной среде наблюдали продолжение увеличения клеточной массы, прорастание клеток в тол-

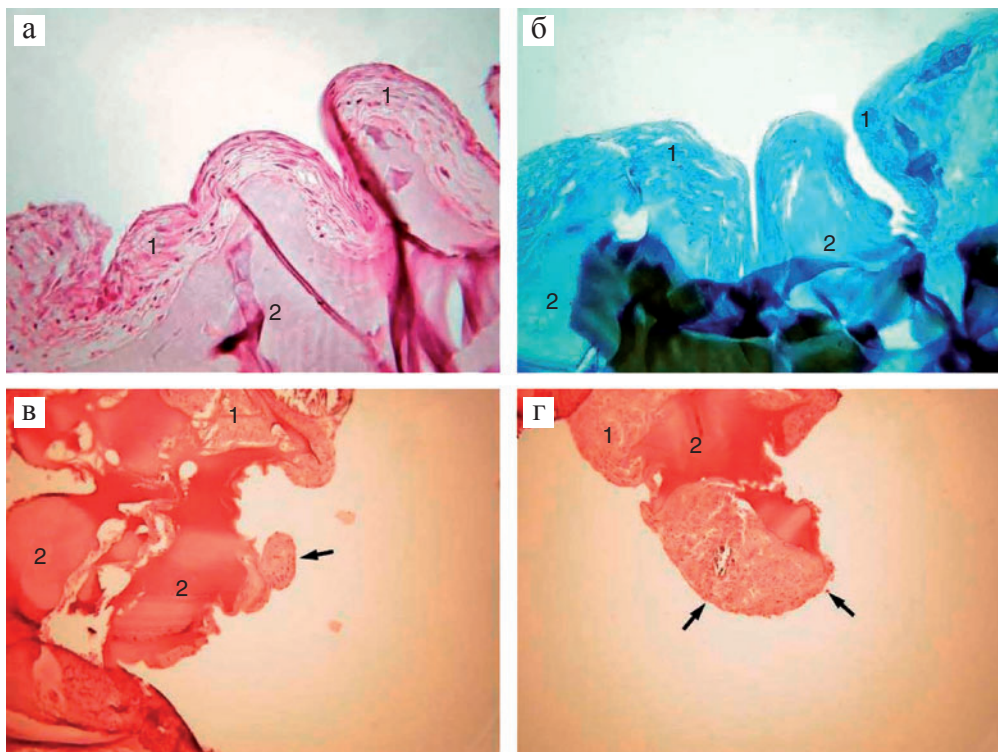


щу БГГ и увеличение количества ВКМ, вырабатываемое клетками. Наблюдалось спонтанное образование сфероподобных структур, сходных с микросферами, полученными из МСК ЖТч в 3D-культуре (рис. 6, в, г). Окрашивание препаратов по методу Маллори показало наличие большого количества коллагеновых волокон в образцах (рис. 7, а), гистохимическое окрашивание антителами к коллагену II типа демонстрирует наличие значительного количества коллагена именно этого типа (рис. 7, б). Присутствие специфичного сине-зеленого окрашивания ВКМ альциановым синим указывает на активный синтез ГАГ дифференцированными МСК ЖТч (рис. 7, в). В некоторых препаратах обнаружены лакунообразные области – группы из нескольких клеток, окруженные ВКМ, напоминающие изогенные группы клеток нативного хряща (рис. 7, г).



**Рис. 5. Формирование ТИК ХТ из КИК ХТ, состоящей из биополимерного гидрогеля Сферо®ГЕЛЬ и МСК ЖТ, 14 суток: а – окрашивание гематоксилином и эозином; б – окрашивание по методу Маллори; 1 – МСК ЖТч, 2 – биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ. ×400**

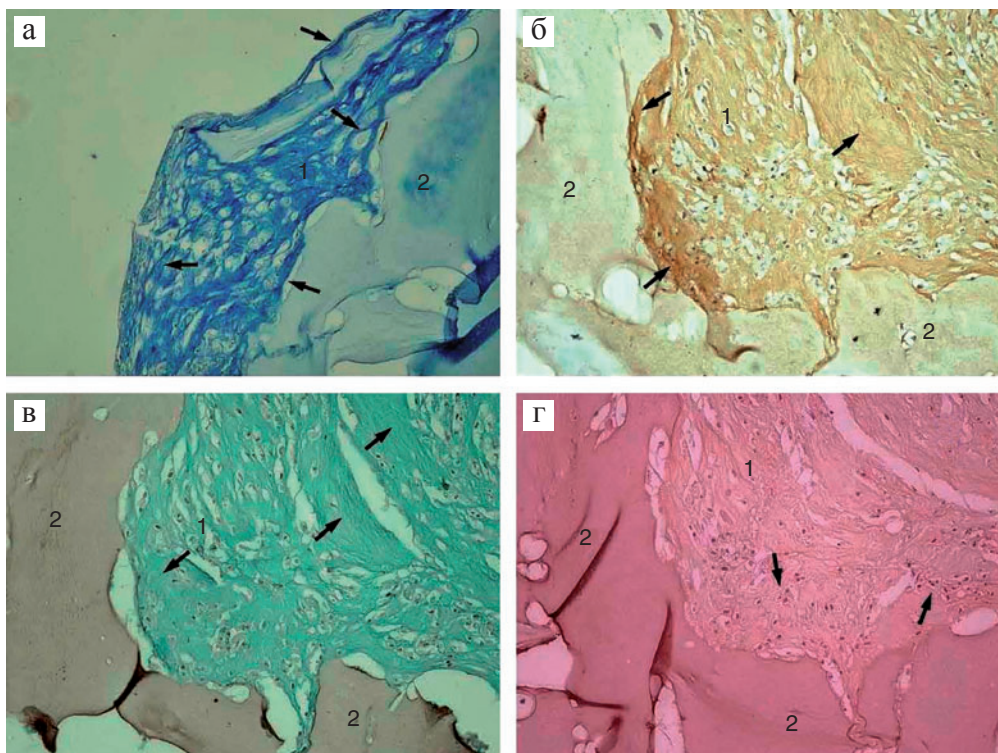
Исходя из проведенных экспериментов, оптимальным составом и условиями формирования ТИК ХТ являются: хондрогенная дифференцировка МСК ЖТч в процессе культивирования в биополимерном гетерогенном матриксе при плотности посева  $2 \times 10^6$  кл/мл матрикса. Показано, что образующиеся в процессе культивирования КИК ХТ трехмерные структуры, состоящие из дифференцированных в хондрогенном направлении МСК ЖТч, начинают продуцировать компоненты собственного внеклеточного матрикса. Формирование собственного ВКМ сопровождается резорбцией с постепенным замещением биополимерного гидрогелевого матрикса, что свидетельствует о начальных стадиях формирования ТИК ХТ в условиях *in vitro*.



**Рис. 6. Формирование ТИК ХТ из ИК ХТ, состоящей из биополимерного гидрогеля Сферо®ГЕЛЬ и МСК ЖТч: а – 28 суток хондрогенной дифференцировки; окрашивание гематоксилином и эозином; б – 28 суток хондрогенной дифференцировки; окрашивание по методу Маллори; в, г – 42 суток хондрогенной дифференцировки; окрашивание гематоксилином и эозином. Микросфероподобные структуры указаны стрелками; 1 – МСК ЖТч, 2 – биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ. ×200**

### **Морфологические изменения КИК хрящевой ткани в условиях *in vivo* (экспериментальная модель подкожной имплантации)**

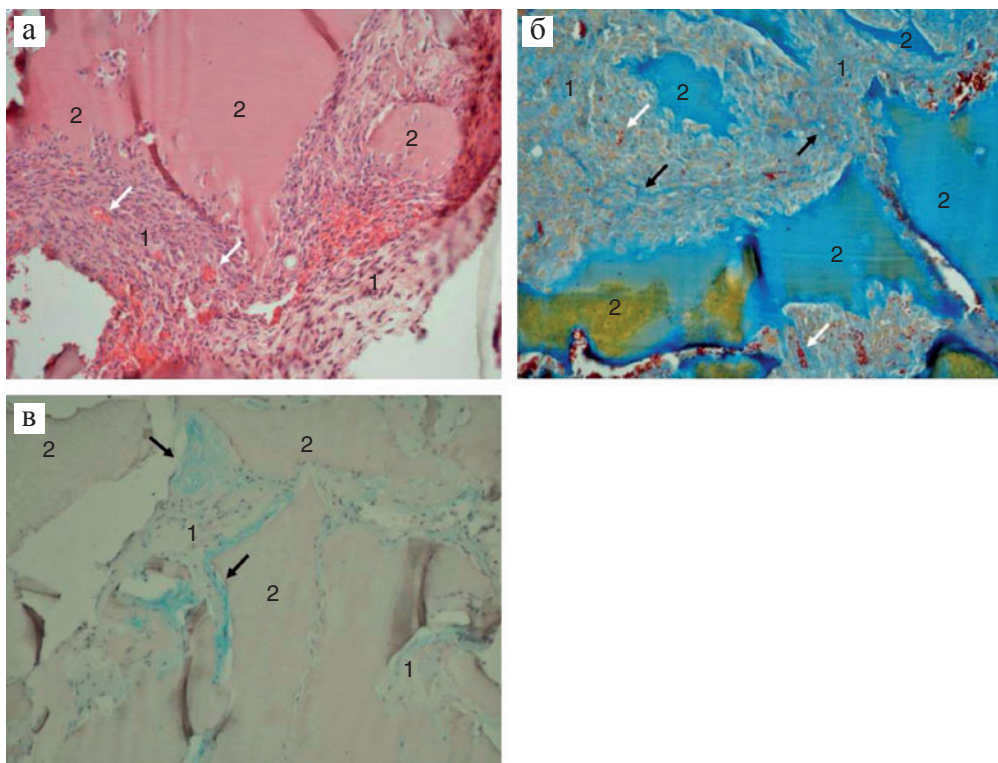
На протяжении эксперимента все животные оставались живы. Каких-либо отклонений в поведении (повышенной или пониженной активности) и состоянии мышц опытной группы по сравнению с контрольной группой не отмечено. Масса тела мышей, клинический и биохимический анализы крови на протяжении исследования значимо не отличалась между группами. Достоверных отличий как абсолютной, так и относительной массы внутренних органов мышей опытной группы от контрольной группы не выявлено ни через 14, ни через 28 суток после имплантации.



**Рис. 7.** Формирование ТИК хрящевой ткани из КИК ХТ, состоящей из биополимерного гетерогенного гидрогеля Сферо®ГЕЛЬ и МСК ЖТч, 42 суток хондрогенной дифференцировки: а – окрашивание на коллаген по методу Маллори (указано стрелками), б – иммуногистохимическое окрашивание антителами к коллагену человека II типа (показано стрелками), в – окрашивание альциановым синим на гликозаминогликаны (указано стрелками), г – лакуноподобные структуры (изогенные группы клеток показаны стрелками), окрашивание гематоксилином и эозином. 1 – МСК ЖТч, 2 – биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ. ×200

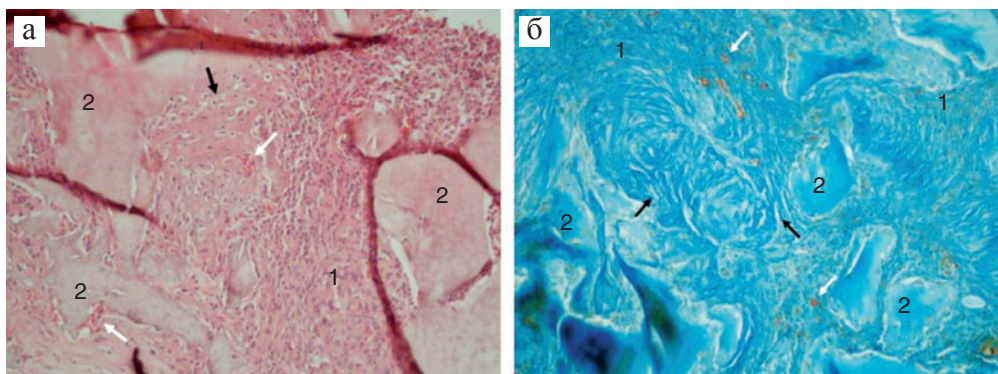
Гистологическое исследование места имплантации показало отсутствие токсичности и туморогенности в обеих группах животных, что говорит о биологической безопасности КИК хрящевой ткани.

Через 14 суток после имплантации в гистологических препаратах, полученных в опытной группе, окрашивание по методу Маллори выявило тонкие коллагеновые волокна синего цвета, окружающие фрагменты биополимерного матрикса (рис. 8, б). При окрашивании срезов альциановым синим удалось обнаружить лишь единичные локусы, демонстрирующие позитивную реакцию на ГАГ (рис. 8, в).



**Рис. 8.** После 14 суток подкожной имплантации КИК ХТ, состоящей из биополимерного гетерогенного гидрогеля и МСК ЖТч: а – окрашивание гематоксилином и эозином; б – окрашивание на коллаген по методу Маллори (указано черными стрелками); в – окрашивание альциановым синим на гликозаминогликаны (указано черными стрелками). 1 – гетерогенная клеточная популяция, 2 – биополимерный гетерогенный гидрогель, капилляры указаны белыми стрелками.  $\times 200$

Через 28 суток в препаратах опытной группы наблюдали более выраженную по сравнению с предыдущим сроком наблюдения резорбцию биополимерного гидрогеля с замещением его рубцовой тканью (рис. 8; 9, а). Фрагменты геля окружены гетерогенной клеточной массой с явным преобладанием фибробластоподобных клеток, в некоторых участках формирующих соединительно-тканную капсулу. Выявлено прогрессивное увеличение массы коллагеновых волокон (рис. 9, б) и локальное сине-зеленое окрашивание, характерное для ГАГ. В отдельных участках имплантата встречаются немногочисленные лакунообразные структуры, характерные для хрящевой ткани (рис. 9, а). Можно предположить, что на более поздних сроках внеклеточный матрикс КИК ХТ постепен-



**Рис. 9.** После 28 суток подкожной имплантации КИК ХТ, состоящей из биополимерного гетерогенного гидрогеля и МСК ЖТч: а – окрашивание гематоксилином и эозином (черными стрелками указаны лакунообразные структуры); б – окрашивание на коллаген по методу Маллори (указано черными стрелками). 1 – гетерогенная клеточная популяция, 2 – биополимерный гетерогенный гидрогель, капилляры указаны белыми стрелками.  $\times 200$

но заместит резорбирующийся биополимерный имплантат с образованием хрящевой ткани.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе работы оптимизирована методика получения МСК из ЖТч. Проведена полная характеристика полученных клеток: морфологическая, иммунофенотипическая, цитогенетическая характеристики, колониобразующая способность, параметры роста и дифференцировочный потенциал в клетки мезодермального ряда (адипогенную, остеогенную и хондрогенную линии). В настоящей работе впервые использован биополимерный гетерогенный гидрогель Сферо®ГЕЛЬ в качестве матрикса для клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани. Показано, что БГГ Сферо®ГЕЛЬ способствует адгезии, пролиферации и хондрогенной дифференцировке МСК ЖТч при воздействии индукционной хондрогенной среды.

Исследованы три варианта получения КИК ХТ на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля Сферо®ГЕЛЬ и МСК ЖТч с различной степенью хондрогенной дифференцировки. При использовании для создания КИК ХТ преддифференцированных МСК в монослое или в «микросферах» не удастся получить жизнеспособные тканеинженерные конструкции из-за большой гибели клеток в данных условиях. При непосредственной хондрогенной дифференцировке МСК ЖТч высокой плотности

на поверхности биополимерного гетерогенного гидрогеля происходит синтез компонентов ВКМ, характерных для хрящевой ткани – ГАГ и коллагена II типа, а также формирование лакуноподобных структур.

В экспериментальной модели подкожной имплантации мышам линии DAB доказано отсутствие токсичности и туморогенности разработанных КИК ХТ. Выявлены некоторые признаки формирования ТИК ХТ в месте имплантации клеточно-инженерной конструкции в условиях *in vivo*.

## ВЫВОДЫ

1. Оптимизирована технология выделения и культивирования МСК из ЖТч. Особенностью метода является время инкубации ткани с коллагеназой Type IA и количество циклов обработки. При использовании данной методики удалось повысить выход клеток с 70 до 300 тыс. клеток/гр. ткани при 95% жизнеспособности.
2. Охарактеризованы морфологические, ростовые, цитогенетические и иммунофенотипические особенности полученных популяций клеток. Показано, что их фенотип соответствует фенотипу МСК, кариотип сохраняется при длительном культивировании.
3. Подтверждена способность полученных МСК к дифференцировке адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях.
4. Исследованы три способа получения КИК хрящевой ткани на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и недифференцированных МСК ЖТч, преддифференцированных в хондрогенном направлении в монослое или в микросферах.
5. Установлено, что оптимальными условиями формирования ТИК хрящевой ткани *in vitro* являются хондрогенная дифференцировка МСК ЖТч в процессе культивирования в биополимерном гетерогенном гидрогеле при плотности посева  $2 \times 10^6$  кл/мл матрикса.
6. Для КИК хрящевой ткани на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и недифференцированных МСК ЖТч к 42 суткам хондрогенной дифференцировки в условиях *in vitro* обнаружен синтез клетками коллагена II типа и ГАГ, которые являются основными компонентами хрящевой ткани.
7. Доказана биологическая безопасность разработанной КИК хрящевой ткани в экспериментальной модели подкожной имплантации мышам-самцам линии DBA в условиях *in vivo*.
8. Выявлены некоторые признаки формирования ТИК хрящевой ткани в месте имплантации КИК ХТ на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и недифференцированных МСК ЖТч в условиях *in vivo*. В гистологических препаратах наблюдали многочисленные коллагеновые волокна и локальное специфическое окрашивание, характерное для ГАГ. В отдельных участках среза имплантата встречались немно-

гочисленные лакунообразные структуры, характерные для хрящевой ткани.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследованные подходы к созданию клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани можно использовать для разработки КИК на основе других биополимерных матриц и клеточных типов.
2. После проведения доклинических и клинических исследований разработанные КИК хрящевой ткани могут быть рекомендованы к применению в заместительной и регенеративной хирургии хрящевых тканей.

## Список опубликованных научных работ по теме диссертации

1. *Егорова В.А., Пономарева А.С., Богданова Н.Б., Абрамов В.Ю., Севастьянов В.И.* Технология выделения и дифференцировки стволовых клеток из жировой ткани человека // Сборник тезисов IV Всероссийского съезда по трансплантологии и искусственным органам. – М., 2008. – С. 302.
2. *Сургученко В.А., Пономарева А.С., Севастьянов В.И.* Разработка методик дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани человека в миогенном и хондрогенном направлениях // Сборник тезисов «Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные и клинические исследования». – М., 2009. – С. 49.
3. *Егорова В.А., Пономарева А.С., Богданова Н.Б., Абрамов В.Ю., Севастьянов В.И.* Характеристика фенотипа мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани человека методом проточной цитометрии. **Технологии живых систем.** – 2009. – Т. 6, № 5. – С. 40–46.
4. *Surguchenko V.A., Ponomareva A.S., Bogdanova N.B., Abramov V.Yu., Sevastianov V.I.* Characterization of human adipose-derived stem cells phenotype as potential cell material for hybrid organ construction. *Rare metals.* – 2009. – Vol. 28. – P. 535–537.
5. *Сургученко В.А., Пономарева А.С., Можейко Н.П., Ильинский И.М., Севастьянов В.И.* Предифференцированные мезенхимальные фибробластоподобные стволовые клетки из жировой ткани человека для тканеинженерной конструкции хрящевой ткани // Сборник тезисов «Стволовые клетки и регенеративная медицина». – М., 2010. – С. 78.
6. *Пономарева А.С., Сургученко В.А., Богданова Н.Б., Можейко Н.П., Севастьянов В.И.* Исследование дифференцировочного потенциала мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани человека // Вестник Саратовского государственного технического университета. – 2011. – 1 (53), Вып 2. – С. 203–208.
7. *Севастьянов В.И., Перова Н.В., Немец Е.А., Сургученко В.А., Пономарева А.С.* Примеры экспериментально-клинического применения биосов-

**местимых материалов в регенеративной медицине** // Биосовместимые материалы: учебное пособие / Под ред. В.И. Севастьянова и М.П. Кирпичникова. – М.: МИА, 2011. – Ч. II, гл. 3. – С. 237–252.

8. **Пономарева А.С., Сургученко В.А., Можейко Н.П., Ильинский И.М., Севастьянов В.И.** Использование мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека и биополимерных матриц для тканеинженерной конструкции хряща // Цитология. – 2011. – 53 (9). – С. 743.
9. **Сургученко В.А., Пономарева А.С., Кирсанова Л.А., Скалецкий Н.Н., Севастьянов В.И.** Предварительные результаты исследований по созданию тканеинженерной конструкции хрящевой ткани // Материалы VI Всероссийского съезда трансплантологов, Москва, 24–27 сентября 2012, Вестник трансплантологии и искусственных органов (Приложение). – 2012. – Т. 14. – С. 316.
10. **Сургученко В.А., Пономарева А.С., Кирсанова Л.А., Бубенцова Г.Н., Скалецкий Н.Н., Севастьянов В.И.** **Формирование тканеинженерной конструкции хрящевой ткани в условиях *in vitro*** // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 66–72.
11. **Перова Н.В., Сургученко В.А., Пономарева А.С., Севастьянов В.И.** Гетерогенные биополимерные имплантаты в тканевой инженерии для регенеративной медицины // Сборник тезисов «Стволовые клетки и регенеративная медицина». – М., 2013. – С. 57.



**Рядовой Иван Григорьевич**

## **КОРОНАРНАЯ АНГИОПЛАСТИКА У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА**

**14.01.24 – Трансплантология и искусственные органы**

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

**Москва – 2013**

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

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Честухин Василий Васильевич**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы**

После решения в целом проблемы трансплантации почки пятилетняя выживаемость почечного трансплантата (ПТ) составила, по данным разных международных регистров, более 70% [1, 2]. Однако выяснилось, что частота ишемической болезни сердца (ИБС) у реципиентов почечного трансплантата (РПТ) оказалась в 3 раза выше по сравнению с обычной популяцией [3, 4]. При этом летальность от кардиологических причин к пятилетнему сроку наблюдения колеблется от 36 до 53% [5, 6]. Это в определенной мере нивелирует эффект трансплантации почек. Казалось бы, оптимальным решением этой проблемы является применение методов реваскуляризации миокарда, доказавших свою эффективность и безопасность при лечении ИБС в обычной популяции. Но применение этих методов у реципиентов ПТ с ИБС связано с большими техническими трудностями по сравнению с обычной популяцией больных и более

высокой летальностью, а в ряде случаев – невозможностью проведения стентирования [7].

Данную ситуацию связывают с последствиями нарушения обменных процессов в организме, происходящих на разных стадиях ХПН до- и пост-трансплантационного периода, которые приводят к выраженным морфологическим изменениям в артериальных сосудах и сердечной мышце.

В частности, типичными изменениями в коронарных артериях у пациентов с ПТ являются выраженный кальциноз артерий, многососудистое и протяженное поражение коронарных артерий, сужение просвета мелких артерий, диффузное поражение коронарного русла [8, 9]. Изменения в сердце выражаются в виде гипертрофии и фиброза миокарда, увеличения объемных характеристик, снижения сократимости левого желудочка [10, 11].

Осложняет решение вопросов диагностики и лечения ИБС отсутствие четкого понимания врачами риска развития контрастиндуцированной нефропатии (КИН) почечного трансплантата при проведении коронарографии или ангиопластики, без использования которых эффективное лечение ИБС признано в настоящее время мало реальным.

В России первая трансплантация почки выполнена в 1965 году Б.В. Петровским, а первые публикации по хирургическому лечению ИБС у пациентов после ТП появились лишь в 2006 году. Кроме работ, выполненных в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов, публикаций по эндоваскулярному лечению ИБС у пациентов с ПТ в России мы не встретили. В то же время хирургическое лечение ИБС в общей популяции пациентов убедительно показало свою высокую эффективность, а рентгенэндоваскулярные методы диагностики и лечения занимают основное место.

Данная работа посвящена оценке риска и эффективности рентгенэндоваскулярной реваскуляризации миокарда у РПТ с ИБС и реакции почечного трансплантата на рентгеноконтрастное вещество (РКВ) с перспективой дальнейшего продвижения этого метода лечения ИБС у пациентов с трансплантированной почкой.

## **Цель исследования**

Оценить факторы, осложняющие проведение эндоваскулярного лечения ишемической болезни сердца у реципиентов почечного трансплантата и определить пути повышения эффективности и безопасности процедуры.

## **Задачи исследования**

1. Оценить характер поражения коронарных артерий при ишемической болезни сердца у реципиентов почечного трансплантата.

2. Провести анализ факторов, осложняющих выполнение ангиопластики и стентирования коронарных артерий у реципиентов с трансплантированной почкой, и разработать методы для преодоления технических сложностей, возникающих при их проведении.
3. Проанализировать частоту и причины осложнений коронарной ангиопластики у реципиентов почечного трансплантата.
4. Изучить действие рентгеноконтрастного вещества на функцию почечного трансплантата в ближайшем периоде (1–3 суток) после эндоваскулярного лечения.
5. Оценить риск и эффективность эндоваскулярного лечения ишемической болезни сердца у реципиентов почечного трансплантата.

### **Научная новизна**

1. Впервые показано что пред- и посттрансплантационные факторы определяют патофизиологические механизмы, усиливающие развитие атеросклеротического процесса в коронарных артериях у реципиентов почечного трансплантата.
2. Определены факторы, влияющие на степень нефротоксического действия рентгеноконтрастного вещества у реципиентов почечного трансплантата и роль сопутствующей патологии (сердечной недостаточности, артериальной гипотонии, анемии и сахарного диабета) в повышении риска развития контрастиндуцированной нефропатии.
3. Определена вероятность развития контрастиндуцированной нефропатии у отдельного пациента и дана количественная оценка эффективности эндоваскулярного лечения ишемической болезни сердца путем сопоставления показателей летальности реципиентов почечного трансплантата после вмешательства с демографической смертностью.
4. Обоснована целесообразность более раннего и широкого применения коронарографии для своевременного решения вопроса об эндоваскулярном лечении ишемической болезни сердца у реципиентов почечного трансплантата.

### **Практическая значимость**

1. Показана безопасность выполнения коронарной ангиопластики и стентирования у реципиентов с почечным трансплантатом (по критериям госпитальной летальности и частоте острой почечной недостаточности, обусловленной действием рентгеноконтрастного вещества).
2. Показана возможность одномоментного стентирования коронарных артерий в необходимом объеме, обусловленная умеренно выраженным и обратимым нефротоксическим действием рентгеноконтрастного вещества, что особенно важно при многососудистом поражении коронарного русла.

3. Разработаны и внедрены в клиническую практику технические приемы, которые позволяют преодолевать сложности эндоваскулярной реваскуляризации миокарда у реципиентов почечного трансплантата.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Риск развития контрастиндуцированной нефропатии почечного трансплантата при проведении рентгенэндоваскулярных диагностических и лечебных процедур существенно ниже эффективности этих методов в лечении ИБС у данной категории пациентов.
2. Факторами риска развития контрастиндуцированной нефропатии являются не только высокие дозы рентгеноконтрастного вещества и дисфункция почечного трансплантата в исходе, но и наличие такой сопутствующей патологии, как сердечная недостаточность, артериальная гипотония, анемия и сахарный диабет.
3. Для преодоления технических сложностей при проведении коронарной ангиопластики и повышения эффективности данной процедуры у реципиентов почечного трансплантата целесообразно применение разработанных нами способов, а также широкого ассортимента инструментов и соответствующей лечебно-диагностической аппаратуры (баллонных катетеров высокого давления, режущих баллонных катетеров, аппаратов для ВСУЗИ, проведения ВАБК и др.).
4. Высокая эффективность и относительная безопасность эндоваскулярной реваскуляризации миокарда у реципиентов почечного трансплантата является важным аргументом в пользу более широкого внедрения этого метода в лечение ишемической болезни сердца у данной категории пациентов.

### **Внедрение результатов работы в клиническую практику**

Основные результаты исследования внедрены в клиническую практику ФГБУ «ФНЦТИО имени академика В.И. Шумакова», НИИ скорой помощи им. Склифосовского и 3-го Центрального военного клинического госпиталя им. А.А. Вишневского.

### **Апробация диссертации**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены:

- 1) на X ежегодной сессии Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН (Москва, 2006);
- 2) Третьем Российском съезде интервенционных кардиоангиологов, Москва, 24–26 марта 2008 г.;
- 3) научной конференции клинических отделений ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, 24 мая 2012 г.;

- 4) Международной конференции «Теория вероятностей и ее приложения» на механико-математическом факультете МГУ, Москва, 26–30 июня 2012 г.

## **Публикации результатов исследования**

По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ в рекомендованных ВАК РФ изданиях.

## **Объем и структура работы**

Работа изложена на 122 страницах машинописного текста и содержит введение, обзор литературы, методическую часть, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 10 рисунками и 16 таблицами. Список литературы включает 15 отечественных источников и 151 – зарубежных.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

#### **Клиническая характеристика пациентов**

За период с 1999-го по 2011 год 56 реципиентам почечного трансплантата с ишемической болезнью сердца была выполнена эндоваскулярная реваскуляризация миокарда (45 мужчин и 10 женщин в возрасте от 31 до 71 года, средний возраст  $54,5 \pm 7,3$  года). Всего выполнено 75 вмешательств. Аллотрансплантация трупной почки выполнялась в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова. В связи с кризом отторжения 7 пациентам (12,7%) трансплантация выполнялась повторно.

Период от пересадки почки до ангиопластики составлял от 1 года до 15 лет. Среднее время жизни трансплантата –  $84,2 \pm 52$  мес. Креатинин крови перед процедурой эндоваскулярного вмешательства был в среднем  $160,3 \pm 64,5$  мкм/л. У 31,1% пациентов функция ПТ в исходе была нормальной ( $Cr < 130$  мкм/л), у 47,5% отмечалась умеренная дисфункция трансплантата ( $Cr$  колебался в пределах 130–200 мкм/л), и в 21,4% случаев имела место выраженная дисфункция ПТ ( $Cr > 200$  мкм/л).

У ряда пациентов имели место сопутствующие заболевания: сахарный диабет у 11 больных (20%), который у части из них был посттрансплантационного генеза. У 26 пациентов (47,3%) в анамнезе был гепатит В и/или С.

Ишемическую болезнь сердца диагностировали на основе данных клиники, инструментальных методов исследования и результатов коронарографии. Значительная часть пациентов (более 70%) имела длительный анамнез ИБС до и после трансплантации почки с типичными ангинозными

болями и одышкой, возникающими в покое или при небольшой физической нагрузке и купирующимися нитратами. Один пациент поступил на ангиопластику с нестабильной стенокардией и еще один – с острым инфарктом миокарда. Третий и четвертый функциональный класс стенокардии (согласно канадской классификации) был у 87,7% больных. ИМ перенесли 34 пациента (61,8%), причем 8 пациентов (14,5%) – дважды, у двоих было три и еще у двух пациентов – 4 ИМ. Артериальная гипертония, резистентная к медикаментозной терапии, наблюдалась у 24 пациентов (43,6%). Гипертрофия ЛЖ имела место у всех больных. Толщина МЖП по данным ЭХОКГ составляла в среднем  $1,35 \pm 0,28$  см, задней стенки –  $1,27 \pm 0,21$  см. У 18,9% пациентов имело место расширение полости ЛЖ (увеличение КДО от 157 до 272 мл, в среднем 202,6 мл). Фракция выброса при этом варьировала от 21 до 66%, в среднем – 46,9%. У остальных больных (81,1%) полость ЛЖ была близка к норме, а фракция выброса – в диапазоне 45–76% (в среднем 63,5%). Средние значения для КДО и ФВ по всем наблюдениям составили  $147,8 \pm 43,4$  мл и  $57,9 \pm 11,9\%$  соответственно. Глобальная диастолическая функция ЛЖ (оценивали на основе ЭХОКГ) у большинства пациентов была нарушена по первому типу, среднее значение параметра E/A для всех наблюдений было  $0,83 \pm 0,05$ . Среднее давление в легочной артерии в общей совокупности наблюдений составляло  $28,6 \pm 2,1$  мм рт. ст.

## Методы исследования и лечения

Пациенты обследованы по принятой в кардиохирургической практике программе, которая включала ЭКГ, ЭхоКГ, нагрузочный тест (велозргометрия, тредмил) для определения толерантности к физической нагрузке, коронарографию, а также клинико-лабораторные исследования для оценки свертывающей системы крови, выявления сопутствующей патологии, такой как сахарный диабет, дислипидемия и др. Всем пациентам была выполнена коронарная ангиопластика со стентированием в максимально возможном объеме.

Показанием для коронарного стентирования являлось наличие ангиографически и клинически значимого стенозирующего поражения коронарного русла. Вопрос о целесообразности коронарного стентирования решался коллегиально с сердечно-сосудистыми хирургами.

Применялись 4 вида рентгеноконтрастного вещества (РКВ): «Визипак-320» (Иодиксанол, GE Healthcare, США), «Омнипак-350» (Йогексол, GE Healthcare, США), «Ультравист» (Йопрамид, Shering, Германия), «Оптирей» (Йоверсол, Tусо Helthcare Grop AG, Швейцария).

Уровень креатинина в крови определяли за 48 часов до и через 24–72 часа после проведения ангиопластики, а затем через 2–3 недели, 1, 3, 6 и 12 мес.

Через 2–3 суток после ангиопластики, а также через 1, 3, 6 и 12 месяцев кардиологическое обследование делалось повторно всем пациентам.

При положительных нагрузочных тестах или появлении клинических признаков рестеноза пациентам выполняли коронарографию для решения вопроса о тактике дальнейшего лечения.

*Электрокардиографическое (ЭКГ) исследование* проводили на аппарате «Megacart» фирмы «Siemens» (Германия).

*Велоэргометрическая проба (ВЭМП)* выполнялась на комплексе «Cardiosys» фирмы «Marquette – Hellige» (Германия).

*Тредмил-тест* проводился на комплексе «Cardiosys» фирмы «Marquette – Hellige» (Германия).

*Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ)* проводили на аппаратах «Power Vision – 380А» фирмы «Toshiba» (Япония) и «Sonos S500» фирмы «Agilent» (Германия). Определялись размеры полостей сердца, фракция выброса ЛЖ по алгоритму Тейхольца и по формуле «площадь–длина», а также показатели трансмитрального диастолического потока, характеризующие диастолическую функцию левого желудочка сердца (пики  $V_e$ ,  $V_a$ , отношение  $V_e/V_a$ ).

*Коронарография* выполнялась на цифровых ангиографических системах «Axion Artis» фирмы «Siemens» (Германия); «Integris 5000H» фирмы «Philips» (Голландия) по методике Judkins. При анализе коронарограмм выделяли три типа кровоснабжения сердца: левый, правый и сбалансированный. Классификацию коронарных артерий и их ветвей, а также разделение артерий на сегменты проводили в соответствии со схемой Американской ассоциации кардиохирургов. Выделялись следующие артерии: ствол левой коронарной артерии (ЛКА), передняя межжелудочковая ветвь (ПМЖВ) с отходящими от нее диагональными ветвями (ДВ), огибающая ветвь (ОВ) с отходящими от нее ветвью тупого края (ВТК) и заднебоковыми ветвями (ЗБВ), правая коронарная артерия (ПКА) с ветвью острого края (ВОК), задней межжелудочковой ветвью (ЗМЖВ) и заднебоковой ветвью (ЗБВ). Для уточнения локализации поражений артерии делились на три сегмента: проксимальный, средний и дистальный. Степень сужения артерии выражалась в процентах. Стенозу 1-й степени соответствовало уменьшение просвета артерии менее 50% площади сечения, 2-й степени – от 50 до 75%; 3-й степени – более 75%.

*Внутрисосудистое ультразвуковое исследование (ВСУЗИ)* выполняли на аппарате «Galaxy I» и «iLAB» производства фирмы «Boston Scientific» (США) для уточнения выраженности, локализации и распространенности атеросклеротического поражения, оценки его морфологического характера, а также определения адекватности позиционирования стента и оценки артерии до и после имплантации стента. Критерием гемодинамически значимого стеноза было уменьшение площади остаточного просвета в месте стеноза артерии (для ствола ЛКА –  $\leq 6 \text{ мм}^2$ , для проксимальных участков коронарных артерий –  $\leq 4 \text{ мм}^2$ ).

*Внутриартериальная баллонная контрпульсация (ВАБК)* проводилась на аппаратах «96» и «CS 100» фирмы «Datascope» (США) и «Autocat-2wave» фирмы «Angio» (США) по стандартной методике. Показаниями для ВАБК были: низкая фракция изгнания левого желудочка сердца (менее 40%), нестабильная гемодинамика при выполнении ангиопластики, выраженный болевой синдром, который не купировался медикаментозно, и кардиогенный шок. У пациентов с резким поражением ствола ЛКА или выраженным трехсосудистым поражением коронарных артерий (функциональный ствол) контрпульсацию проводили превентивно (назначали за 10–30 минут до процедуры).

*Коронарную ангиопластику со стентированием* выполняли бедренным доступом с использованием стандартных доз гепарина. Наиболее часто использовались проводниковые катетеры 7–8 Fr. Всем пациентам за 72 часа до процедуры назначался клопидогрель в дозе 75 мг в сутки и аспирин в суточной дозе 100 мг. При экстренном вмешательстве перед началом процедуры пациент получал 300 мг аспирина и 600 мг клопидогреля. За 15 минут до процедуры выполнялась премедикация промедолом. Положительным ангиографическим результатом стентирования считали величину остаточного стеноза менее 10%, удовлетворительный антеградный кровоток по артерии (TIMI –3) и отсутствие диссекции по краям стента.

## **Статистический анализ**

Данные исследования обработаны методами математической статистики с помощью программы Microsoft Excel. Были рассчитаны средние арифметические величины показателей (M), средние частоты (P) и среднеквадратичное отклонение ( $\sigma$ ). Достоверность отличий оценивали по критерию Стьюдента. Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Для оценки вероятности развития КИН применяли многомерную логистическую регрессию. Показатели летальности после ЭВЛ сопоставлялись с демографической смертностью с помощью закона Гомперца–Мейкема (использовалась таблица смертности в России за 2009 год по данным Роскомстата). Статистический анализ проводился при участии профессора механико-математического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова В.Н. Тутубалина).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Характер поражения сосудов сердца по данным коронарографии**

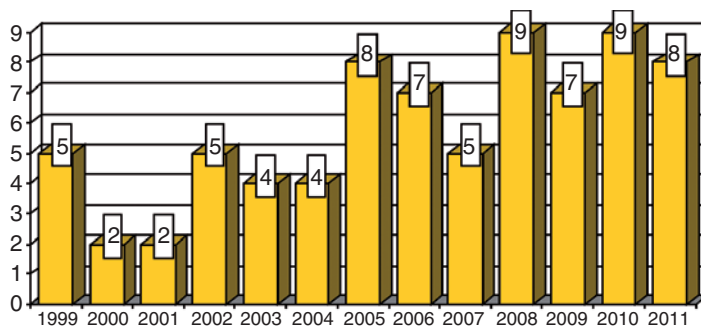
По результатам ангиографического исследования 30 (53%) пациентов имели трехсосудистое поражение коронарных артерий, 15 (26%) – поражение двух коронарных артерий, 22 (39%) – окклюзии артерий, 32 (57%) –



диффузное поражение коронарного русла, и у 52% пациентов отмечался выраженный кальциноз сосудов сердца.

## Ангиопластика и стентирование у реципиентов ПТ

Первичное стентирование коронарных артерий выполнено 56 пациентам с ПТ, повторное – 19. Распределение количества операций по годам представлено на рис. 1.



**Рис. 1. Распределение вмешательств по годам**

Всего вмешательству подверглись 90 коронарных артерий. В общей сложности имплантировано 113 голометаллических и 25 стентов с лекарственным покрытием. Среднее количество стентов на одного пациента составило 2,4. Характеристика стентирований представлена в таблице 1.

*Таблица 1*

### Характеристика стентирований КА

Средняя длина стента (мм)	18,7
Средний диаметр (мм)	3,12
Среднее количество стентов на одного пациента	2,4
Общее количество стентов	138
Количество покрытых стентов	25
Количество бифуркационных стентирований КА	33
Стентирование ствола ЛКА	4
Среднее время ангиопластики (мин)	85,3 ± 23,9
Среднее количество контраста на процедуру, мл	495,5 ± 186,7

Из 23 окклюзий КА реканализовано 15 (65%).

## Дополнительные методы при коронарной ангиопластике

Внутрисосудистое ультразвуковое исследование выполнялось в 7 процедурах, внутриаортальная баллонная контрпульсация (ВАБК) проводи-

лась у 4 больных, а ингибиторы Пб/Ша рецепторов тромбоцитов применялись в 10 процедурах.

## **Интраоперационные осложнения**

Из 75 стентирований выраженные диссекции КА возникали в 14 случаях (18,6%), 6 (8%) из которых сопровождалась острым тромбозом. Тромбозы были ликвидированы введением блокаторов Пб/Ша рецепторов тромбоцитов и последующим адекватным стентированием этих участков. У одной пациентки не удалось стентировать и восстановить кровоток по артерии в области диссекции с тромбозом, в связи с чем у нее интраоперационно развился ИМ.

Несмотря на наличие у больных тяжелых, множественных и диффузных поражений КА с выраженным кальцинозом, не было летальных исходов или острых разрывов артерий, которые потребовали бы экстренного проведения АКШ.

Ложные аневризмы в области пункции бедренной артерии наблюдались в 6 (8%) случаях. Все они тромбировались посредством длительной мануальной компрессии.

## **Отдаленные результаты стентирования**

Повторные вмешательства выполнялись (в сроки от 3 месяцев до 5 лет) в 19 (25%) случаях: 8 (11%) – по поводу рестенозов в ранее стентированных участках, остальные 11 (14%) – в связи с прогрессированием атеросклероза в других сегментах коронарных артерий.

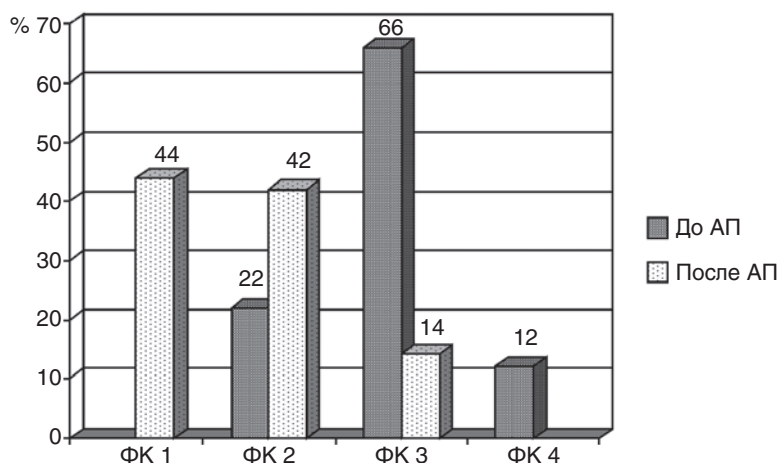
За 12 лет наблюдения умерли 8 больных (3 – от кардиальных причин, 1 – от инсульта, 1 – от крупозной пневмонии, 1 – от печеночной недостаточности, остальные двое – в связи со злокачественными новообразованиями).

## **Особенности ангиопластики и стентирования**

Для данной категории больных характерно тяжелое поражение коронарных артерий, проявляющееся в выраженном кальцинозе, гиперплазии эндотелия и сужении просвета артерий, большой протяженности поражения, выраженной извитости КА. Одной из основных особенностей КА у реципиентов ПТ является высокая склонность к диссекциям интимы артерий, которые иногда возникают даже от соприкосновения с ней коронарного проводника. Выявленные нами грубые морфологические изменения коронарных артерий обуславливают значительные технические сложности проведения инструментов по сосудам, доставки и раскрытия стента. Разработанные нами методы способствовали преодолению этих сложностей и повышению эффективности процедуры коронарной ангиопластики со стентированием.

## Эффективность и безопасность эндоваскулярной реваскуляризации миокарда у реципиентов ПТ

В результате проведенного нами лечения у РПТ отмечалась выраженная положительная динамика клинического состояния в ближайшем послеоперационном периоде – приступы стенокардии прекращались либо беспокоили значительно реже. Увеличивалась толерантность к физической нагрузке и соответственно этому снижался функциональный класс стенокардии – в среднем на 1,2 класса (табл. 2, рис. 2).



**Рис. 2.** Динамика функционального класса стенокардии после ЭВЛ

*Таблица 2*

### Изменение частоты ФК стенокардии после ангиопластики

ФК стенокардии	1	2	3	4
До ангиопластики	0,00	0,22	0,66	0,12
После ангиопластики	0,44	0,42	0,14	0,00

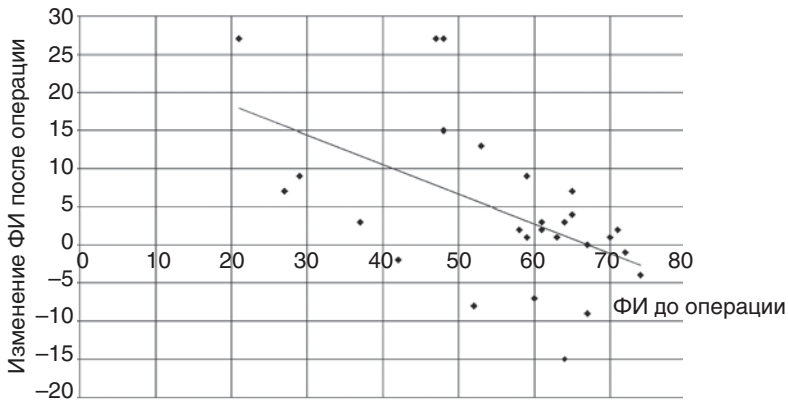
Динамика показателей функционального состояния миокарда в общем массиве наблюдений представлена в табл. 3.

*Таблица 3*

### Влияние ЭВЛ на функциональное состояние миокарда (n = 75)

Показатели	До операции	После операции	P-значение
КДО	147,82 ± 6,25	140,06 ± 9,40	0,25
ФИ	57,93 ± 1,66	61,34 ± 2,07	0,10
Ve/Va	0,787 ± 0,051	0,763 ± 0,063	0,35

Из таблицы видно, что КДО ЛЖ и ФИ в среднем по всему массиву наблюдений не изменялись. Однако при регрессионном анализе найдена достоверная зависимость изменения ФИ от ее исходной величины (рис. 3). Чем ниже ФИ была в исходе, тем больше она увеличивалась в результате ЭВЛ (найденная зависимость достоверна при  $p = 0,0024$ ).



**Рис. 3. Зависимость изменения ФИ в результате операции от значения ФИ в исходе ( $p = 0,0024$ )**

Глобальная диастолическая функция ЛЖ после вмешательства в общем массиве данных не изменялась (Е/А до операции было в среднем  $0,787 \pm 0,051$ , а после  $-0,763 \pm 0,063$ ,  $p = 0,349$ ). Выраженность гипертрофии ЛЖ в ближайшем периоде после ЭВЛ также не изменялась (толщина МЖП в исходе была в среднем  $1,347 \pm 0,036$  см, а после лечения  $-1,329 \pm 0,051$ ,  $p = 0,387$ , толщина ЗС в исходе составляла в среднем  $1,266 \pm 0,032$ , а после лечения  $-1,232 \pm 0,039$ ,  $p = 0,252$ ). Этого и следовало ожидать, учитывая небольшой промежуток времени после вмешательства.

Важнейшими критериями эффективности лечения являются повышение выживаемости больных в отдаленном послеоперационном периоде, а также снижение частоты тяжелых осложнений, и прежде всего инфаркта миокарда. В отдаленном периоде после эндоваскулярного лечения у наших пациентов не было ни одного случая ОИМ за все время наблюдения (с 1999-го по 2011 год). В табл. 4 представлены показатели летальности за весь 12-летний период наблюдения.

При сопоставлении полученных нами данных с данными зарубежных авторов частота общей летальности после стентирования у реципиентов ПТ через один год составила 9,1% против 11%; летальность через два года – 12,7% против 17,5% [12]; через три года – 14% у наших пациентов против 23% [12]; и наконец, через пять лет – 18,9% у наших пациентов против 35% в работе [12].

Таблица 4

**Летальность РПТ за время наблюдения**

Вид летальности	Госпитальная, n = 56	В течение 1 года, n = 55	В течение 3 лет, n = 50	В течение 5 лет, n = 37	За 1999–2011 годы
Кардиальная	0	2 (3,6%)	2 (4%)	2 (5,4%)	3
Общая (включая кардиальную)	0	5 (9,1%)	7 (14%)	7 (18,9%)	8

*Примечание.* Общее число случаев смерти за определенный период делится на число пациентов, прошедших наблюдение в этом периоде, которое закономерно снижается при увеличении сроков наблюдения. Поэтому даже если не появляются новые летальные случаи при увеличении длительности наблюдения, процент летальности, тем не менее, возрастает.

При сопоставлении общей летальности после ЭВЛ (в общей сложности 8 случаев за все время наблюдения) с демографическими данными о летальности среди всего населения мы воспользовались зависимостью летальности от возраста (начиная с возраста 20 лет), приблизительно описываемой кривой Гомперца–Мейкема. Для определения параметров мы использовали таблицу смертности в России за 2009 год по данным Роскомстата. Вычисляя вероятность смерти каждого наблюдаемого нами пациента в интервале времени от проведенного ему ЭВЛ до конца 2011 года и суммируя эти вероятности, мы получили, что математическое ожидание числа летальных случаев составляет 8,17. Фактическое число случаев смерти у наших больных равно 8. Это означает, что у реципиентов ПТ, которым проведена эндоваскулярная реваскуляризация миокарда, вероятность смерти в среднем примерно равна таковой для всего населения.

### **Влияние рентгеноконтрастного вещества на функцию почечного трансплантата**

Из общего массива клинических данных, включавшего 75 процедур ангиопластики со стентированием, был сформирован файл из 50 наблюдений. Остальные наблюдения были изъяты из анализа в силу отсутствия части необходимых параметров. Данный файл содержал анамнестические сведения о характере заболевания, продолжительности гемодиализа, времени от трансплантации до момента реваскуляризации миокарда, о наличии сердечной и сосудистой недостаточности, отека легких в анамнезе, концентрации гемоглобина и гематокрите до и после операции, сведения о применении вспомогательного кровообращения и инотропной поддержки миокарда в процессе операции, а также о наличии сахарного диабета, возрасте больного, продолжительности операции, концентрации

креатинина до и после операции, а также о ряде вспомогательных параметров. Эти данные были необходимы для анализа характера действия контраста и сравнения полученных нами данных с результатами других авторов.

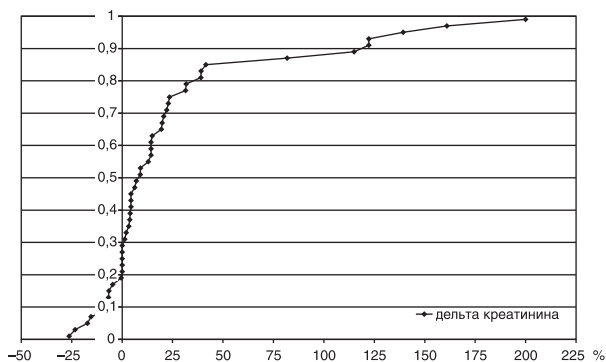
Графический анализ исходных данных в зависимости от даты операции за более чем десятилетний период времени (1999–2011 гг.) не выявил каких-либо заметных трендов в значениях рассматриваемых показателей. Таким образом, полученные данные в первом приближении могут рассматриваться как выборки. Общепринятые выборочные характеристики ряда исходных данных приведены в табл. 5.

Таблица 5

### Средние и стандартные отклонения ряда параметров

Среднее	Возраст (годы)	Длит. БАП (мин)	РКВ (мл)	Креатинин до (мкМ/л)	Креатинин после (мкМ/л)	Серд. недост. (%)	Анемия (%)	Диабет (%)
	54,5	85,8	492,6	160,3	196,5	28	25,5	15
Стандарт. откл.	7,4	23,9	185,9	64,5	102,5	–	–	–

При исследовании влияния рентгеноконтрастных веществ на функцию почек основным критерием последней было изменение концентрации креатинина в сыворотке крови после ангиопластики. Креатинин во всем массиве наблюдений повышался в среднем со  $160,3 \pm 64,5$  мкМ/л до  $196,5 \pm 102,5$  мкМ/л. Эту совокупность легко представить в наглядном виде с помощью эмпирической функции распределения, как это сделано на рис. 4.



**Рис. 4. Эмпирическая функция распределения изменения креатинина после ангиопластики**

Для исследования зависимости изменения креатинина от дозы РКВ и исходной функции ПТ (концентрации креатинина крови до операции) были сформированы 4 группы наблюдения по следующим условным границам между «нормой» и превышением «нормы» для отдельных показателей. По объему РКВ: не более 400 мл – норма, более 400 мл – превышение нормы. По показателю креатинина до ЭВЛ: в пределах 150 мкм/л – норма, более 150 мкм/л – превышение нормы. Для наступления события контрастиндуцированного повышения креатинина (КИПК) было принято возрастание последнего на 5% и более по отношению к исходному значению. Группы наблюдений и результаты обработки приведены в табл. 6. Из нее видно, что увеличение дозы РКВ, так же как и снижение в исходе функции ПТ, вызывает достоверное повышение креатинина крови после ангиопластики.

Таблица 6

**Изменение креатинина крови в зависимости  
от исходной функции ПТ и дозы РКВ**

Номер группы	Условие формирования группы	Кол-во наблюдений	Средние показатели по группам ± ошибка среднего						Частота КИПК, %
			Кол-во РКВ	Креатинин до операции	Креатинин после операции	ΔCr мкм/л	%ΔCr	p-знач. *ΔCr	
1	Все данные	50	492,6 ± 26,3	162,1 ± 9,1	192,2 ± 12,7	30,1 ± 7,3	19,7 ± 5,0	0,001	56
2	Контраст ≤400 Креатинин ≤150	12	366,7 ± 18,8	125,4 ± 5,9	135,0 ± 7,1	9,6 ± 2,3	7,9 ± 2	0,007	33
3	Контраст >400 Креатинин ≤150	17	657,6 ± 48,0	118,9 ± 4,9	149,5 ± 10,9	30,5 ± 11,2	28 ± 10,0	0,007	59
4	Контраст ≤400 Креатинин >150	12	341,7 ± 13,5	215,7 ± 15,5	258,5 ± 30,1	42,8 ± 21,4	18,0 ± 10,3	0,035	58
5	Контраст >400 Креатинин >150	9	550,0 ± 23,1	221,2 ± 24,6	261,1 ± 31,2	39,9 ± 19,0	20 ± 10,1	0,034	77

Контрастиндуцированная нефропатия (КИН) – повышение уровня сывороточного креатинина, согласно общепринятым критериям, на 25% и более от исходного значения либо более чем на 44 мкм/л в течение 24–48 часов после применения РКВ – наблюдалась в 14 случаях (28%). При сравнении групп пациентов с КИН и без КИН было показано, что помимо дозы РКВ и состояния исходной функции ПТ на развитие КИН влияет также и ряд других факторов, в том числе сердечная недостаточность, артериальная гипотония, анемия и диабет.

## **Сопоставление с результатами работ, в которых для оценки вероятности КИН применялся многомерный логистический анализ**

В работе [13] каждому пациенту приписывается та или иная сумма баллов, в зависимости от его возраста, дозы контраста, функции почек и сопутствующих заболеваний. Вероятность наступления КИН зависит от этой суммы баллов. Рассматриваются два способа А и В расчета этой вероятности для каждого отдельного пациента. Суммируя эти вероятности, получаем ожидаемое число случаев КИН.

Для наших больных результаты следующие:

– в варианте А ожидаемое число случаев КИН = 14,72, ст. откл. = 2,97.

– в варианте В ожидаемое число случаев КИН = 11,18, ст. откл. = 2,81.

Фактическое число случаев КИН в нашей базе данных равно 14. Таким образом, оба варианта, А и В, удовлетворительно согласуются с фактическим числом случаев КИН. Это свидетельствует о соответствии наших клинических данных о частоте КИН результатам ведущих специалистов в этой области.

КИН не обязательно обуславливает серьезные клинические последствия, прежде всего развитие почечной недостаточности, требующей проведения гемодиализа. Как правило, содержание креатинина крови возвращалось через одну–три недели к исходным значениям. Функция ПТ после вмешательства оставалась сохранной. Ни в одном случае гемодиализ не потребовался.

Таким образом, полученные нами данные и опыт проведения ЭВЛ ишемической болезни сердца у пациентов с ПТ дают основания полагать, что РКВ не приводит к необратимому клинически значимому ухудшению функции ПТ. Частота КИН у наших больных соответствовала зарубежным данным для почечных больных. Помимо нефротоксического действия РКВ и дисфункции ПТ в исходе факторами риска КИН являются сердечно-сосудистая недостаточность, анемия и сахарный диабет. Технические достижения последнего времени дают возможность восстановить проходимость магистральных отделов коронарных артерий практически во всех случаях, кроме наличия окклюзии. Последняя, по нашим данным, поддается реканализации в 65%, причем эта процедура является относительно безопасной. Высокий риск кардиальной летальности у РПТ с ИБС и умеренное нефротоксическое действие РКВ у этих больных позволяют рекомендовать более широкое применение КГ с целью своевременной диагностики и ЭВЛ на более ранних этапах коронарной болезни. РПТ с ИБС представляют группу больных с крайне выраженным поражением КА. ЭВЛ у них часто сопряжено с большими техническими сложностями и более высоким риском осложнений по сравнению с обычной популяцией пациентов с ИБС. Ангиопластика и стентирование у этих



больных должны выполняться опытными эндоваскулярными хирургами, которые владеют соответствующими методами вмешательства. Кроме того, для проведения этих лечебных процедур необходимо располагать широким набором современных инструментов и медикаментов. Основными показателями эффективности лечения у данной категории больных являются значительное улучшение клинического состояния, повышение работоспособности и соответственно этому – снижение функционального класса коронарной недостаточности и уменьшение летальности. Смертность наших больных за все время наблюдения (1999–2011) примерно равна демографической смертности лиц того же возраста и пола и заметно меньше по сравнению с данными зарубежных авторов.

## **ВЫВОДЫ**

1. Для реципиентов почечного трансплантата характерно тяжелое течение ишемической болезни сердца, резистентной к медикаментозной терапии, требующее реваскуляризации миокарда: 80% пациентов с 3–4-м функциональным классом стенокардии, 61% перенесли инфаркт миокарда, у 79% – двух- и трехсосудистое поражение коронарного русла, в половине случаев (у 52 и 57% пациентов) имеется массивный кальциноз коронарного русла и выраженная извитость коронарных артерий, что определяет сложность эндоваскулярной реваскуляризации миокарда.
2. Основными факторами, осложняющими проведение коронарной ангиопластики и стентирования у реципиентов почечного трансплантата, являются грубые морфологические изменения сосудов сердца, которые способствуют развитию выраженных диссекций и острых тромбозов коронарных артерий, а также определяют сложность проведения инструмента по артериям и полного раскрытия стента из-за высокой плотности кальцинированной атеросклеротической бляшки.
3. Основными интраоперационными осложнениями эндоваскулярной реваскуляризации миокарда у реципиентов почечного трансплантата являются диссекции коронарных артерий – 18,6%; в 8% случаев – острый тромбоз коронарных артерий, ложная аневризма бедренной артерии – 8%, интраоперационный инфаркт миокарда – 1,3%. Необходимости в проведении экстренного аортокоронарного шунтирования не было.
4. Контрастиндуцированная нефропатия почечного трансплантата наблюдалась у 28% пациентов и во всех случаях была обратимой. Гемодиализ ни в одном случае не потребовался. Факторами риска развития контрастиндуцированной нефропатии являются превышение дозы рентгеноконтрастного вещества более 400 мл, сниженная в исходе функция почечного трансплантата (сывороточный креатинин более

- 150 мкМ/л), а также наличие сопутствующей патологии (сердечной недостаточности, артериальной гипотонии, анемии и сахарного диабета).
5. Эффективность эндоваскулярного лечения характеризовалась улучшением клинического состояния больных и повышением толерантности к физической нагрузке (функциональный класс стенокардии снижался в среднем на 1,2 единицы), госпитальная летальность отсутствовала. Летальность в отдаленном послеоперационном периоде составила за 3 года 14%, за 5 лет – 18,9%. Общая летальность за 12-летний период наблюдения сопоставима с демографической смертностью лиц того же возраста и пола.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Устойчивость почечного трансплантата к достаточно высоким дозам рентгеноконтрастного вещества позволяет одновременно решать вопросы стентирования коронарных артерий в максимальном объеме при многососудистом поражении коронарного русла и рекомендовать более раннее и более широкое применение коронарографии для своевременного решения вопроса о целесообразности эндоваскулярной реваскуляризации миокарда.
2. При наличии у больного нескольких факторов риска контрастированной нефропатии необходимо проводить предоперационную подготовку, направленную на коррекцию явлений сердечной недостаточности, артериальной гипотонии, анемии и гипергликемии.
3. Сочетание поражения ствола левой коронарной артерии (или его функционального варианта) с поражением правой коронарной артерии, а также при исходно резистентной к терапии хронической сердечной недостаточности с выраженным трехсосудистым поражением коронарных артерий является показанием к превентивному проведению внутриортальной баллонной контрпульсации. Последняя должна применяться также в процессе эндоваскулярной процедуры при интраоперационном инфаркте миокарда с явлениями острой сердечной недостаточности.
4. Для выбора хирургической тактики целесообразно проводить внутрисосудистое ультразвуковое исследование в следующих случаях: а) при пограничных по значимости стенозах в проксимальных сегментах основных магистральных артерий сердца, б) для оценки выраженности распространяющейся диссекции коронарной артерии, в) для уточнения адекватности прилегания страт стента к сосудистой стенке после стентирования в участках с выраженным кальцинозом, г) при подозрении на тромбоз в ранее имплантированном стенте.
5. При проведении эндоваскулярной процедуры ввиду повышенной склонности артерий к выраженным диссекциям и тромбозам необходимо иметь в наличии блокаторы P<sub>2b</sub>/P<sub>3a</sub> рецепторов тромбоцитов для

экстренного интраоперационного применения, а в некоторых случаях для превентивного введения при стентировании протяженных участков с массивным кальцинозом и при явлениях гиперкоагуляции.

6. Учитывая повышенную склонность артериальной стенки к выраженным диссекциям, предилатацию целесообразно выполнять баллонными катетерами малого диаметра (не более 2 мм). При массивном кальцинозе коронарных артерий и атеросклеротических бляшек необходимо применять баллонные катетеры высокого давления.
7. Для доставки стента в нужный сегмент коронарной артерии мы применяем следующие приемы.
  - а. Предпочитаем проводниковые катетеры 7–8F, которые по форме и размеру обеспечивают максимальную поддержку.
  - б. Для доставки стента при наличии сопротивления в артерии наиболее простым способом является введение дополнительного проводника с более высокой поддержкой, который «распрямляет» изгибы артерии, препятствующие проведению стента, и позволяет увеличить прилагаемое усилие на проводимый стент.
  - в. Если этого недостаточно, проводим по второму проводнику баллонный катетер в проблемный участок, а стент располагаем в кончике гайд-катетера на первом проводнике. Раздувая и сдувая баллонный катетер, расширяем просвет артерии и прижимаем поврежденные элементы к стенке сосуда. В результате этого сдутый и ставший плоским баллонный катетер покрывает часть внутренней поверхности артерии. По нему стент с меньшим сопротивлением преодолевает препятствие и доставляется в нужный сегмент артерии. После этого баллонный катетер извлекается и имплантируется стент. Этот прием применяется не более чем в 20% случаев. В сложных ситуациях он эффективен.
  - г. При многоуровневом поражении коронарной артерии и возникновении сложностей в проведении стента следует начинать стентирование с проксимального отдела артерии (а не с дистального, как это делается обычно). Это обеспечивает более свободное продвижение следующего стента.
  - д. В 26% случаев стент, тем не менее, не удается доставить в планируемый участок артерии. Тогда мы проводим имплантацию его в максимально возможной точке продвижения. Как правило, продвижение следующего стента в планируемый участок артерии достигается успешно.
  - е. Если имеется информация о предстоящих технических сложностях, предпочтение следует отдавать более коротким и гибким («эластичным») стентам.
8. Планируя тактику лечения у пациентов с многоуровневым трехсосудистым поражением коронарных артерий и массивным кальцинозом, нали-

чием дисфункции почечного трансплантата, сочетающейся с сопутствующей патологией (сердечной недостаточностью, артериальной гипотонией, анемией и сахарным диабетом), мы считаем возможным проведение реваскуляризации миокарда в два этапа. На первом этапе выполняется коррекция критических стенозов проксимальных сегментов основных коронарных артерий. Далее вопрос о целесообразности и задачах второго этапа решается на основе клинических и инструментальных данных.

9. Для успешного проведения коронарной ангиопластики и стентирования у реципиентов почечного трансплантата необходимо располагать большим количеством и широким арсеналом инструментов (баллонными катетерами и стентами низкого профиля, баллонными катетерами высокого давления, широким спектром коронарных проводников с гидрофильным покрытием и увеличенной поддержкой и др.).

## Список использованных источников

1. *Opelz J.* CTS 2008.
2. *USRDS Annual Data Report 2006, 2007.*
3. *Renal Data System. USRDS 2000 annual data report. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD. – 2001.*
4. *Kasiske B.L., Chakkerla H.A., Roel J.* // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2000. – Vol. 11. – P. 1735–1743.
5. *Raine AEG,* *Nephrol. Dial. Transplant.* 1992. – 7 (Suppl. 2). – P. 7–35.
6. *Locatelli F., Bommer J., London G.M. et al.* *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2001. – 16. – P. 459–468.
7. *Herzog Ch. A., Ma J.Z., Collins A. J.* *Circulation.* – 2004. – Vol. 109. – P. 2866–2871. – Vol. 37. – P. 64–72.
8. *London G.M., Guerin A.P., Marchals S.J. et al.* *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2003. – Vol. 18. – P. 1731–1740.
9. *Luke R.G.* *New Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 339 (12). – P. 841–843.
10. *Amann K., Ritz E., Wiest G., Klaus G., Mall G.* *Am Soc Nephrol.* – 1994. – Vol. 4. – P. 1814–1819.
11. *Rigatto C., Foley R.N., Kent G.M., Guttman R., Parfley P.S.* Long-term changes in left ventricular hypertrophy after renal transplantation // *Transpl.* – 2000. – Vol. 4 (70). – P. 570–575.
12. *De Meyer M., Wyns W., Dion R. et al.* *Clin. Nephrol.* – 1991. – Vol. 36. – P. 147–151.
13. *Mehran R., Aymong E.D. et al.* *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2004. – 44. – P. 1393–1399.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Шумаков В.И., Томилина Н.А., Ким И.Г., Честухин В.В., Миранков Б.Л., Миранков А.Б., Рядовой И.Г., Гонтуар М.Г., Остроумов Е.Н., Ермоленко А.Е.*

- Ишемическая болезнь сердца после трансплантации почки: эпидемиология, факторы риска и хирургические подходы к лечению // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2006. – № 11. – С. 31–37.
2. *Шумаков В.И., Честухин В.В., Миронков А.Б., Покатилов А.А., Томилина Н.А., Ким И.Г., Рядовой И.Г.* Коронарная ангиопластика в лечении ишемической болезни сердца у больных после трансплантации почки // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2007. – Т. 8, № 6. – С. 191.
  3. *Честухин В.В., Рядовой И.Г., Миронков А.Б., Миронков Б.Л., Томилина Н.А., Ким И.Г.* Функция почечного трансплантата в ближайший период после коронарной ангиопластики // Материалы 4-го Всероссийского съезда трансплантологов (Россия, Москва, 9–10 ноября 2008). – С. 146.
  4. *Шумаков В.И., Честухин В.В., Рядовой И.Г., Миронков А.Б., Миронков Б.Л., Томилина Н.А.* Коронарная ангиопластика в лечении ишемической болезни сердца у больных после трансплантации почки // Материалы Третьего Российского съезда интервенционных кардиоангиологов (Россия, Москва, 24–26 марта 2008 г.), Международный журнал интервенционной кардиологии. – 2008. – № 14. – С. 96.
  5. *Честухин В.В., Рядовой И.Г., Миронков Б.Л., Томилина Н.А., Ким И.Г.* Коронарная ангиопластика у больных ишемической болезнью сердца после трансплантации почки // Материалы ежегодной научно-практической конференции Российского научного общества интервенционных кардиоангиологов (Москва, 11–13 ноября 2009 года), Международный журнал интервенционной кардиологии. – 2009. – № 19. – С. 75.
  6. *Ким И.Г., Честухин В.В., Миронков Б.Л., Гонтуар М.Г., Рядовой И.Г., Семеновский М.Л., Казаков Э.Н., Захаревич В.М., Акопов Г.А., Белокуров Д.А., Томилина Н.А.* Подходы к лечению кардиоваскулярных заболеваний и их эффективность у больных с терминальной хронической почечной недостаточностью // Нефрология и диализ. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 345–346.
  7. *Рядовой И.Г., Томилина Н.А., Честухин В.В., Ким И.Г., Миронков А.Б.* К вопросу о безопасности использования рентгеноконтрастных веществ при проведении коронарной ангиопластики у реципиентов почечного трансплантата // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2010. – № 2. – С. 43–48.
  8. *Честухин В.В., Миронков А.Б., Томилина Н.А., Ким И.Г., Рядовой И.Г.* Эндovasкулярное лечение ишемической болезни сердца у реципиентов почечного трансплантата // Трансплантология. – 2010. – № 1. – С. 105.
  9. *Честухин В.В., Миронков А.Б., Томилина Н.А., Ким И.Г., Рядовой И.Г.* Факторы, усложняющие проведение эндovasкулярного лечения ишемической болезни сердца у реципиентов почечного трансплантата // Материалы Четвертого Российского съезда интервенционных кардиоангиологов (Москва, 21–23 марта 2011 года), Международный журнал интервенционной кардиологии. – 2011. – № 24. – С. 127.
  10. *Рядовой И.Г., Миронков А.Б., Бабаян Г.Р., Гонтуар М.Г., Честухин В.В.* Проблемы эндovasкулярной реканализации миокарда у реципиентов почечного трансплантата // Международный журнал интервенционной кардиологии. – 2011/12. – № 27/28. – С. 35.

11. *Рядовой И.Г., Честухин В.В., Томилина Н.А., Ким И.Г., Гонтуар М.Г., МIRONKOV А.Б.* Оценка эффективности эндоваскулярной реваскуляризации миокарда у реципиентов почечного трансплантата // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – № 2. – С. 25–32.
12. *Рядовой И.Г., Тутубалин В.Н.* Проблема нефротоксического действия йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ // Мат. международной конференции «Теория вероятностей и ее приложения» (Москва, 26–30 июня 2012 г.). – С. 335.
13. *Рядовой И.Г., Честухин В.В., МIRONKOV А.Б., Тутубалин В.Н.* Влияние рентгеноконтрастного вещества на функцию почечного трансплантата при эндоваскулярной реваскуляризации миокарда // Вестн. трансплант. и искусственных органов. – 2012. – № 4. – С. 52–58.

---

**VI. УКАЗАТЕЛЬ РАБОТ  
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ  
В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ,  
ОПУБЛИКОВАННЫХ  
В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ  
В 2013 г.**

---

1. **AlMazroa M.A., Memish Z.A., Bikbov B.T.** GBD 2010 country results: a global public good // *The Lancet*. – 2013. – Vol. 381. – P. 997–1003.
2. **Antonenko Y.N., Kotova E.A., Omarova E.O., Rokitskaya T.I., Ol'shevskaya V.A., Kalinin V.N., Nikitina R.G., Osipchuk J.S., Kaplan M.A., Ramonova A.A., Moisenovich M.M., Agapov I.I., Kirpichnikov M.P.** Photodynamic activity of the boronated chlorine e6 amide in artificial and cellular membranes // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2014. – Vol. 1838. – Iss. 3. – P. 793–801.
3. **Basok Y.B., Salomatina L.A., Tikhobaeva A.A., Sevastianov V.I.** A Pharmacokinetic Study of Caffeine Transdermal Therapeutic Systems // *Advanced Metals, Ceramics and Composites*; ed. H. Tu, K. Solntsev, R. Zhou. Yunnan Publ. Group Corp., Kunming, China, 2013. – P. 175–177.
4. **Beletskaya L.V., Kuprijanova A.G., Zaidenov V.A., Gautier S.V.** Lymphatic CD68+ endothelial cells in cardiac allograft humoral rejection // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 202.
5. **Bikbov B.T., Perico N., Remuzzi G.** Mortality landscape in the Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study // *European Journal of Internal Medicine*. 2013. – <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2013.09.002>.
6. **Bogorodskii S.E., Vasilets V.N., Krotova L.I., Minaeva S.A., Mironov A.V., Nemets E.A., Surguchenko V.A., Popov V.K., Sevast'yanov V.I.** Formation of bioactive highly porous polymer matrices for tissue engineering // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2013. – Vol. 4. – Iss 5. – P. 448–456.
7. **Franquesa M., Hoogduijn M.J., Eggenhofer E., Pinxteren J., Christ B., Shagidulin M., Obermajer N., Pulin A., Remuzzi G., Dahlke M.H.** Mesenchymal Stem Cells in Solid Organ Transplantation (MiSOT) // *Transplantation*. – 2013. – Vol. 96 (3). – P. 234–238.
8. **Gautier S.V., Poptsov V.N., Saitgareev R.Sh., Shumakov D.V., Zakharevich V.M., Kormer A.J., Khalilulin T.A., Shevchenko O.P., Kuprijanova A.G., Goltz A.V.** ABO-incompatible heart transplantation: necessity or possibility? // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 261.
9. **Kupriyanova A.G., Ilyinsky I.M., Beletskaya L.V., Zaidenov V.A., Mozeiko N.P., Saitgareev R.S., Kormer A.Ya., Golts A.M., Zakharevich V.M., Gautier S.V.** Rejection Risk Evaluation during the ABO-incompatible Heart Transplantation // 3rd ESOT Basic Science Meeting & 13th TTS Basic Science Symposium, 7–9 November, Paris, France. – S. 269.
10. **Linkov P., Artemyev M., Efimov A.E., Nabiev I.** Comparative advantages and limitations of the basic metrology metoda applied to characterization of nanomaterials // *Nanoscale*. – 2013. – Vol. 5 (19). – P. 8781–8798.
11. **Minina M., Burlutzky Y.** From a classical approach of «in situ» perfusion to modern pumping techniques in donors after cardiac death // 16th Congress of the European Society for Organ Transplantation, Vienna, Austria, 8–11 September 2013 / *Transplant International*. – 2013. – Vol. 26. – Issue Supplement s2. – P. 120.
12. **Mochalov K.E., Efimov A.E., Bobrovsky A. Yu., Agapov I.I., Chistyakov A.A., Oleinikov V.A., Nabiev I.** High-resolution 3D structural and optical analyses of



- hybrid or composite materials by means of scanning probe microscopy combined with the ultramicrotome technique: an example of application to engineering of liquid crystals doped with fluorescent quantum dots // *Proceedings of SPIE*. – 2013. – Vol. 8767. – P. 801–812.
13. **Mochalov K.E., Efimov A.E., Bobrovsky A., Agapov I.I., Chistyakov A.A., Oleinikov V., Sukhanova A., Nabiev I.** Combined scanning probe nanotomography and optical microspectroscopy: a correlative technique for 3D characterization of nanomaterials // *ACS NANO*. – 2013. – Vol. 7, № 10. – P. 8953–8962.
  14. **Nemets E.A., Younes R.A., Hudoshin A.K., Gabrielyan N.I., Sevastianov V.I.** The Influence of the Material Nature on the Biofilm-Forming Ability of Hospital-Associated Strains, Isolated from the Biological Substrates of Patients // *Advanced Metals, Ceramics and Composites*; ed. H. Tu, K. Solntsev, R. Zhou. Yunnan Publ. Group Corp., Kunming, China. – 2013. – P. 216–220.
  15. **Poptsov V.N., Spirina E.A., Vinogradova O.U.** Early extubation in operating room after heart transplantation // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 261–262.
  16. **Poptsov V., Spirina E., Zacharevith S., Ereemeeva O., Slobodjanik V.** Left ventricle unloading by percutaneous trans-septal cannulation of the left atrium in patients bridged to heart transplantation with peripheral venoarterial extracorporeal membrane oxygenation // *Interact. CardioVasc. Thorac. Surg.* – 2013. – Vol. 17. – Suppl. 2. – S117.
  17. **Sevastyanov V.I.** Biopolymer Implants for Tissue Engineering and Regenerative Medicine // Plenary lecture of the 12-th China-Russian Symposium on Advanced Materials and Technologies, Kunming, China, 2013, November 19.
  18. **Sevastianov V.I., Vasilets V.N., Surguchenko V.A., Ponomareva A.S., Efimov A.E., Nemetz E.A., Khudoshin A.K.** Adhesion and Proliferation of Mouse Fibroblasts on Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Films. Effects of Mean Roughness and Crystallinity // *Advanced Metals, Ceramics and Composites*; ed. H. Tu, K. Solntsev, R. Zhou. Yunnan Publ. Group Corp., Kunming, China, 2013. – P. 231–234.
  19. **Shagidulin M., Gautier S., Gorkun A., Onishchenko N., Pulin A., Repin V., Saburina I., Zurina I.** Liver tissue regeneration after transplantation of human umbilical cord derived MSC's spheroids at modeling of chronic liver failure // *The international journal of artificial organs*. – 2013. – Vol. 36 (8). – P. 584.
  20. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Bashkina L., Nicolskaya A., Iljinsky I., Mogeiko N., Avramov P., Volkova E., Lundup A., Perova N., Sevastjanov V., Gautier S.** Selection of tactics of damaged liver therapy by Using cell transplantation (experimental study) // *Transplant International*. – 2013. – Vol. 26. – P. 185.
  21. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Shmerko N., Andriyanova A., Bashkina L., Nicolskaya A., Petrakow K., Volkova E., Avramov P., Nemetc E., Sevastjanov V. and Gautier S.** Treatment of acute liver failure using cells transplantation // 9th Swiss experimental surgery symposium (SESS). – 2013. – Fribourg. – P. 7.

22. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Nemetc E., Perova N., Sevastjanov V., Gautier S.** Treatment of Acute Liver Failure by Transplantation of Liver Cells and Multipotent Mesenchymal Stromal Cells // *J. European Surgical Research*. – 2013. – Vol. 50 (suppl 1). – P. 21.
23. **Shagidulin M., Onishchenko N., Krasheninnikov M., Iljinsky I., Mogeiko N., Lundup A., Bashkina L., Nicol'skaya A., Volkova E., Petrakov K., Avramov P., Perova N., Sevastjanov V. and Gautier S.** Treatment of chronic liver failure by using stem cells transplantation // Abstract book: The 4th Annual «Induced Pluripotent Stem Cells Event: Production and Utility in Regenerative Medicine and Other Applications». – 2013. – London. – P. 4.
24. **Shevchenko O., Kurabekova R., Poptsov V., Kuncевич N., Khalilulin T., Lugovskaya S., Naumova E., Spirina E., Dolgov V., Gautier S.** CD34/CD45 positive cells concentration in peripheral blood of heart recipients before and after heart transplantation // *Transplant International*. – 2013. – Vol. 26. – P. 216.
25. **Shevchenko O.P., Orlova O.V., Mironkov B.L., Iljinsky I.M., Kuprijanova A.G., Korner A.J., Gautier S.V.** Neopterin predicts poor short- and long-term outcomes in heart transplant recipients // *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. – 2013. – Vol. 32, № 4S. – P. 52.
26. **Surguchenko V.A., Ponomareva A.S., Kirsanova L.A., Bubentsova G.N., Skaletskij N.N., Sevastianov V.I.** On the Possibility of in vitro Formation of Tissue-engineered Construct of Cartilage on the Basis of Cell-engineered Construct Composed of Biopolymer Hydrogel Matrix and Human Adipose Tissue-derived Mesenchymal Stromal Cells // *Advanced Metals, Ceramics and Composites*; ed. H. Tu, K. Solntsev, R. Zhou. Yunnan Publ. Group Corp., Kunming, China, 2013. – P. 242–245.
27. **Volkova E.A., Avramov P.V., Itkin G.P., Shagidulin M. U., Shochina E.G., Sinyavkin D.O.** Assessing the impact of the implantable axial pump on the immune system in an experiment on calves // *Int. J. Artif. Organs*. – 2013. – Vol. 36 (8). – P. 573.

---

## ДЛЯ ЗАМЕТОК

---

## ДЛЯ ЗАМЕТОК

---

## ДЛЯ ЗАМЕТОК

---

## ДЛЯ ЗАМЕТОК

---

## ДЛЯ ЗАМЕТОК

ООО «Издательство «Триада». ИД № 06059 от 16.10.01 г.  
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 504,  
тел./факс (4822) 429022, 354130  
E-mail: triada@stels.tver.ru <http://www.triada.tver.ru>

Подписано к печати 24.09.2014 г.  
Формат 60×84 1/16. Усл. печ. л. 22  
Бумага офсетная. Печать офсетная  
Гарнитура Times New Roman. Тираж 1000 экз.

Заказ

Отпечатано в соответствии  
с предоставленными материалами  
в ЗАО «ИПК Парето-Принт», г. Тверь  
[www.pareto-print.ru](http://www.pareto-print.ru)