

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА»

На правах рукописи

УЛЫБЫШЕВА АДЭЛЯ АНВЕРОВНА

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГАЛЕКТИНА-3
ПРИ ОСТРОМ ОТТОРЖЕНИИ И ФИБРОЗЕ
ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА**

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук,
профессор
О.П. ШЕВЧЕНКО

Москва 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Страница
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 ГАЛЕКТИН-3 ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	12
1.1 Неинвазивная диагностика посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца	12
1.2 Патогенетическое и клиническое значение биомаркеров отторжения трансплантированного сердца	20
1.3 Биомаркеры фиброза миокарда	24
1.4 Галектин-3 – новый биомаркер сердечной недостаточности и фиброза миокарда	28
1.5 Результаты исследований галектина-3 у реципиентов сердца	32
1.6 Заключение	34
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1 Характеристика пациентов, включенных в исследование	36
2.2 Методы обследования пациентов	37
2.3 Анализ концентраций биомаркеров в плазме крови пациентов	38
2.4 Измерение концентрации галектина-3 в плазме крови пациентов	41
2.5 Гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов миокарда трансплантированного сердца	42
2.6 Оценка клинической эффективности биомаркеров у реципиентов сердца	43
2.7 Статистическая обработка результатов исследования	45

ГЛАВА 3 АНАЛИЗ УРОВНЯ ГАЛЕКТИНА-3 В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЗАСТОЙНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА В РАННИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ	47
3.1 Сравнительный анализ содержания галектина-3 у здоровых лиц и у пациентов с застойной сердечной недостаточностью, ожидающих трансплантацию сердца	47
3.2 Исследование уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца	51
3.3 Анализ связи уровня галектина-3 с концентрацией биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца	53
3.4 Анализ концентрации галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения сердечного трансплантата	57
ГЛАВА 4 СВЯЗЬ УРОВНЯ ГАЛЕКТИНА-3 В ПЛАЗМЕ КРОВИ РЕЦИПИЕНТОВ С НАЛИЧИЕМ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ФИБРОЗА ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА	65
4.1 Частота и характер гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата у реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации	65
4.2 Сравнительный анализ частоты выявления гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших и не перенесших кризы острого отторжения трансплантата	69
4.3 Сравнительный анализ содержания галектина-3 в плазме крови реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата и без такового	79

ГЛАВА 5 АНАЛИЗ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ГАЛЕКТИНА-3, У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ	91
5.1 Анализ диагностической значимости галектина-3 у реципиентов сердца в отношении фиброза миокарда трансплантата	91
5.2 Анализ диагностической значимости галектина-3 в отношении фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения	97
ОБСУЖДЕНИЕ	104
ВЫВОДЫ	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Эффективность трансплантации сердца (ТС) как радикального метода лечения пациентов в терминальной стадии застойной сердечной недостаточности доказана большим количеством исследований (Lund L.H., 2014; Готье С.В., 2015; Yusen R.D., 2015).

Несмотря на совершенствование иммуносупрессивной и адъювантной медикаментозной терапии и достигнутый за последние годы значительный прогресс в выживаемости пациентов с трансплантированным сердцем, в отдаленном периоде у реципиентов может развиваться субклиническая сердечная недостаточность (СН), возникающая вследствие совокупности различных патологических механизмов (Готье С.В., 2014). Одним из ключевых компонентов патогенеза СН является фиброз трансплантата, который формируется вследствие накопления в миокарде фрагментов фибриллярного белка – коллагена I и III типов (Milting H., 2008; Dang Z., 2012; Lok S.I., 2015). Развитию СН у реципиентов и формированию фибротических изменений в трансплантированном сердце способствуют острое отторжение сердечного трансплантата, артериальная гипертензия, васкулопатия трансплантата, метаболический синдром, сахарный диабет, нарушение функции почек и др. (Hullin R., 2014).

Объективным методом верификации патологии миокарда трансплантированного сердца является эндомиокардиальная биопсия (ЭМБ), выполнение которой сопряжено со всеми ограничениями и рисками инвазивных вмешательств. Разработка малоинвазивных методов выявления осложнений в посттрансплантационном периоде является приоритетной задачей. Одним из путей решения является поиск новых биомаркеров, с одной стороны, участвующих в индуцировании фибротических процессов, с другой – являющихся индикаторами риска нежелательных событий, связанных с их развитием.

Факторами, участвующими в регуляции фиброгенеза, являются С-концевой пропептид проколлагена типа I (PICP), С-концевой телопептид коллагена типа I (CITP), матриксная металлопротеиназа (ММР-1) и тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ (ТИМР-1) (Драпкина О.М., 2013; Lok S.I., 2015). Среди известных биомаркеров, концентрация которых в плазме крови пациентов связана с развитием фиброза, – трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- β I), N-терминальный участок мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) (Patel J.K., 2013; Franekova J., 2015; Mueller T., 2016).

Галектин-3 является недавно описанным биомаркером сердечной недостаточности и риска развития фиброза миокарда у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (Gandhi P.U., 2015; Desmendt V., 2016; French B., 2016), однако роль галектина-3 у реципиентов сердца при развитии посттрансплантационных осложнений не изучена.

Цель исследования

Определить связь уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов с острым отторжением и развитием фиброза миокарда трансплантата и оценить его диагностическую значимость при трансплантации сердца.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать содержание галектина-3 у пациентов с застойной сердечной недостаточностью – потенциальных реципиентов сердца; связь концентрации галектина-3 с возрастом, полом и этиологией сердечной недостаточности.
2. Провести анализ динамики уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации.
3. Оценить корреляции уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца с концентрацией биомаркеров, потенциально значимых при развитии посттрансплантационных осложнений.
4. Определить связь величины уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов с количеством перенесенных кризов острого отторжения

трансплантата, верифицированного по результатам гистологического и иммуногистохимического исследования эндомикардиальных биоптатов.

5. Провести сравнительный анализ частоты выявления при эндомикардиальной биопсии фиброза миокарда трансплантата, в том числе у реципиентов, перенесших и не перенесших кризы острого отторжения трансплантированного сердца.

6. Провести сравнительный анализ концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов с наличием гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата и без таковых; сравнить содержание галектина-3 у реципиентов сердца с диффузным, очаговым, диффузно-очаговым фиброзом.

7. Определить диагностически значимые пороговые концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации в отношении фиброза миокарда трансплантата и провести анализ диагностического значения галектина-3 при фиброзе миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения.

Научная новизна

Новыми являются данные о содержании и динамике концентрации галектина-3 у реципиентов до и в различные сроки после трансплантации сердца; о связи уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов с количеством перенесенных кризов острого отторжения трансплантата, верифицированных по данным эндомикардиальной биопсии.

Впервые выявлена связь уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов с наличием и характером фибротических изменений миокарда трансплантата.

Впервые доказана диагностическая значимость галектина-3 при фиброзе миокарда в отдаленные сроки после трансплантации и разработан оригинальный способ неинвазивной диагностики фиброза миокарда у реципиентов, перенесших острое отторжение трансплантата.

Теоретическая и практическая значимость

Выявленная связь содержания галектина-3 в плазме крови реципиентов с наличием верифицированных гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата может указывать на роль галектина-3 в патогенезе развития посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца.

Установленный факт влияния гуморального отторжения в большей степени, нежели острого клеточного, на развитие фиброза миокарда может иметь значение для понимания значимости иммунных механизмов в развитии фибротических изменений в трансплантированном сердце.

Важной для практического использования является рассчитанная величина диагностически значимой пороговой концентрации галектина-3 в отдаленные сроки после трансплантации в отношении фиброза миокарда трансплантированного сердца.

Разработанный неинвазивный способ диагностики фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, может иметь практическое значение при наблюдении (скрининге) реципиентов в отдаленные сроки после трансплантации.

Методология и методы исследования

В исследовании представлен анализ концентрации галектина-3 в плазме крови у пациентов с застойной сердечной недостаточностью и у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации. Охарактеризована связь уровня галектина-3 с количеством перенесенных кризов острого отторжения трансплантата; наличием и характером фибротических изменений в миокарде трансплантата, выявленных на основании гистологических и иммуногистохимических исследований образцов эндомиокардиальных биоптатов. Для определения уровней биомаркеров (галектина-3, VEGF-D, VEGF-A, PlGF, PDGF-BB, MCP-1, sCD40L) был использован иммуноферментный анализ в различных модификациях (в том числе мультиплексная технология). Для

обобщения результатов настоящего исследования применялись методы параметрической и непараметрической статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с терминальной сердечной недостаточностью и у реципиентов в ранние сроки после трансплантации сердца уровень галектина-3 в плазме крови выше, чем у здоровых лиц.

2. В отдаленные сроки после трансплантации уровень галектина-3 выше у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата, верифицированным по результатам ЭМБ; концентрация галектина-3 у реципиентов без признаков фиброза миокарда трансплантата не отличается от таковой у здоровых лиц.

3. Уровень галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации коррелирует с числом ранее перенесенных кризов острого отторжения трансплантированного сердца.

4. Острое отторжение трансплантированного сердца является фактором, способствующим развитию фиброза миокарда трансплантата; величина концентрации галектина-3 обладает диагностической значимостью и может служить неинвазивным биомаркером фиброза миокарда в отдаленные сроки после трансплантации.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется объемом проведенных исследований (343 образца плазмы крови, полученные от 124 пациентов, обследованных до и после трансплантации сердца; гистологический и иммуногистохимический анализ 583-х образцов биопсийного материала) с использованием современных и стандартизированных методов анализа.

Работа выполнена в рамках государственных заданий Минздрава России (2015-2017 и 2018-2020 гг.) на осуществление научных исследований и разработок по темам: «Разработка биотехнологических, биомедицинских, клинических подходов к повышению эффективности трансплантации сердца и легких» и «Разработка подходов к улучшению отдаленных результатов трансплантации

сердца путем создания персонализированных методов диагностики и лечения острой и хронической дисфункции трансплантата и коморбидных состояний у реципиентов».

Апробация работы состоялась 18.07.2019 года на совместной конференции научных и клинических подразделений федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова), кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова), кафедры кардиологии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (РНИМУ им. Н.И. Пирогова).

Основные результаты работы доложены и обсуждены на VIII Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2016 г.), Третьем Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2017 г.), 18 Международном конгрессе Европейского общества трансплантологов (ESOT, Барселона, Испания, 2017 г.), IX Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2018 г.), Четвертом Российском национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019 г.).

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в кардиологическом отделении НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова, в учебном процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ФГАОУ ВО

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, в лечебно-диагностическом процессе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловская областная клиническая больница №1», г. Екатеринбург.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в разработке концепции и постановке задач исследования; самостоятельно осуществляла сбор материала для исследования, выполнила определение концентрации биомаркеров с помощью иммуноферментного анализа. Автором самостоятельно сформирована база данных, проведены статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 5 статей в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 публикация в зарубежном издании.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике пациентов и методам исследования, 3 глав результатов собственных исследований, обсуждения, 7 выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 140 источников, из них 51 отечественный и 89 зарубежных. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста, иллюстрирована 11 таблицами и 42 рисунками.

ГЛАВА 1 ГАЛЕКТИН-3 ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Неинвазивная диагностика посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смертности во всем мире. Несмотря на значительные успехи медикаментозной терапии и хирургических методов лечения, с каждым годом число пациентов, страдающих ССЗ увеличивается (Katz J.N., 2015; Чазов Е.И., 2015; Бойцов С.А., 2018). На сегодняшний день единственным эффективным методом лечения пациентов с терминальной стадией застойной сердечной недостаточности (СН) является трансплантация сердца (ТС).

В настоящее время число ТС, выполненных в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова превысило тысячу, и только за последний 2018 год было проведено 197 таких операций. НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова является мировым лидером по числу ежегодно выполняемых пересадок сердца в одном учреждении (Готье С.В., 2018).

Успешное развитие программы трансплантации сердца содействовало решению важной задачи: обеспечения длительного выживания и улучшения качества жизни пациентов с трансплантированным сердцем (Готье С.В., 2014; Шевченко А.О., 2014). Согласно данным Регистра Международного Общества Трансплантации Сердца и Легких (International Society for Heart and Lung Transplantation, ISHLT) средняя продолжительность жизни пациентов с трансплантированным сердцем составляет 15 лет, но имеются данные, о реципиентах с большей продолжительностью жизни после трансплантации (Stehlik J., 2011; Lund L.H., 2014; Yusef R.D., 2015). Среди основных патологических факторов, ограничивающих выживаемость реципиентов сердца в раннем послеоперационном периоде и в течение первого года жизни после ТС, является острое отторжение трансплантата. Отторжение сердечного трансплантата – это защитная реакция организма реципиента, направленная

против чужеродных клеток донорского органа. Выделяют сверхострое и острое клеточное отторжение (ОКО), острое антителоопосредованное (гуморальное, AMR) и хроническое отторжение; также возможно одновременное выявление признаков клеточного и гуморального отторжения (смешанное отторжение) (Готье С.В., 2014).

Сверхострое клеточное отторжение развивается в течение первых часов после восстановления кровообращения у реципиента и обусловлено наличием в крови преобладающих цитотоксических антител, которые в присутствии комплемента образуют комплексы с антигенами на поверхности эндотелиальных клеток трансплантата. Это способствует повреждению эндотелиальных клеток и нарушению проницаемости сосудов пересаженного сердца. Гистологически сверхострое отторжение проявляется выраженным отеком интерстиция миокарда и дистрофическими и некротическими изменениями кардиомиоцитов (Готье С.В., 2014). Данные патологические изменения в трансплантированном сердце несовместимы с жизнью реципиента.

Острое клеточное отторжение трансплантированного сердца является одним из основных осложнений. ОКО чаще возникает в первые месяцы после трансплантации и является одной из основных причин потери трансплантата в течение первого года после операции. В отдаленные сроки данная патология развивается реже. У большинства реципиентов сердца острое клеточное отторжение на ранних стадиях после трансплантации не имеет клинических проявлений и диагностируется на основании гистологического исследования биоптата сердца. Для гистологической оценки степени острого клеточного отторжения используется классификация ISHLT-1990 и ISHLT-2004. Согласно классификации ISHLT-1990 различают следующие степени острого клеточного отторжения трансплантированного сердца:

* степень 0 – отсутствие признаков острого клеточного отторжения;

* степень 1А – очаговое легкое острое отторжение (наличие очагового интерстициального или первиваскулярного инфильтрата, без повреждения кардиомиоцитов);

* степень 1В – диффузное легкое острое отторжение (диффузная интерстициальная и/или первиваскулярная инфильтрация лимфоцитами, без повреждения кардиомиоцитов);

* степень 2 – очаговое умеренное острое отторжение (очаг с инфильтрацией лимфоцитами, очаговое повреждение кардиомиоцитов);

* степень 3А – многоочаговое умеренное отторжение (воспалительная инфильтрация лимфоцитами и эозинофильными лейкоцитами);

* степень 3В – диффузное отторжение, пограничное с тяжелым острым отторжением (диффузная инфильтрация лимфоцитами, нейтрофильными и эозинофильными лейкоцитами, дистрофия или некроз кардиомиоцитов);

* степень 4 – тяжелое острое отторжение (диффузная полиморфноклеточная инфильтрация, распространенный некроз кардиомиоцитов, отек интерстиции).

Классификация ISHLT-2004 представляет упрощенную форму классификации ISHLT-1990. Легкие степени острого отторжения (1А, 1В) и очаговая умеренная (степень 2) объединены в одну степень легкого клеточного отторжения – R1G. Степень отторжения 3А соответствует степени R2G – умеренное клеточное отторжение. Степени 3В и 4 по классификации ISHLT-1990 соответствует тяжелой степени острого клеточного отторжения – R3G по новой классификации ISHLT-2004 (Готье С.В., 2014).

Острое антителоопосредованное (гуморальное) отторжение трансплантированного сердца встречается почти у 20% реципиентов. Этот вид отторжения обусловлен взаимодействием антител реципиента с антигенами эндотелия сосудов донорского сердца. Иммуногистохимический диагноз

гуморального отторжения основан на выявлении иммуноглобулинов различных классов – IgG, IgM, IgA, зафиксированных на эндотелиальных клетках сосудов миокарда, пропитывания стенок сосудов фибрином и появлении в крови реципиента антител против донорских молекул главного комплекса гистосовместимости (Bayliss J., 2008; Кюс М., 2014; Готье С.В., 2014).

Хроническое отторжение сердечного трансплантата проявляется васкулопатией трансплантата (болезнь коронарных артерий пересаженного сердца, БКАПС), – основным фактором, оказывающим негативное влияние на отдаленный прогноз у реципиентов сердца (Готье С.В., 2015).

Если при гистологическом исследовании эндомиокардиального биоптата выявляются одновременно признаки клеточного и антителоопосредованного отторжения, то имеет место смешанное отторжение трансплантированного сердца.

Риск развития острого отторжения трансплантированного сердца более высок в раннем послеоперационном периоде, хотя кризы острого отторжения могут возникать в любые сроки после трансплантации. Поздние кризы отторжения чаще возникают при назначении недостаточных доз иммуносупрессивной терапии и несоблюдении реципиентами предписанного врачом режима приема лекарственных средств, а также возникшими вирусными инфекциями, приводящими к активации иммунной системы пациента.

Смертность реципиентов, связанная с отторжением трансплантата, остается значительной, в связи с чем за последнее десятилетие в клинической трансплантологии одним из активно разрабатываемых вопросов является поиск подходов и методов неинвазивной (малоинвазивной) диагностики осложнений у реципиентов солидных органов (Шевченко О.П., 2008; Долгов В.В., 2014).

БКАПС, которая является одним из основных факторов, негативно влияющих на отдаленный прогноз у реципиентов, характеризуется диффузным, протяженным, концентрическим стенозом стенок коронарных артерий трансплантированного сердца (Шевченко О.П., 2013). Предположительно, развитию диффузного фиброзного утолщения интимы сосудов и

прогрессирующей обструкции коронарных артерий трансплантата способствуют классические факторы риска развития ССЗ – возраст и избыточная масса тела, а также артериальная гипертензия, сахарный диабет и др. Значительную роль в развитии БКАПС следует отнести острое отторжение трансплантированного сердца – в литературе имеются данные о корреляции числа эпизодов отторжения с риском развития БКАПС. Основным методом скрининга реципиентов сердца для выявления БКАПС является ангиографическое исследование, регулярно проводимое, согласно протоколу ведения реципиентов после ТС (Готье С.В., 2014).

У реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации может развиваться субклиническая хроническая сердечная недостаточность, возникающая вследствие фиброза миокарда трансплантата. К формированию фиброза миокарда трансплантированного сердца может привести совокупность различных патологических факторов – артериальная гипертензия, острое отторжение и васкулопатия трансплантата, а также ряд сопутствующих заболеваний, в том числе сахарный диабет, метаболический синдром и прочее.

Основной механизм развития фиброза в тканях миокарда связан с активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системой (РААС). Повышенная выработка ангиотензина-II оказывает прямое токсическое действие – вызывает дисфункцию и некроз кардиомиоцитов. С другой стороны, ангиотензин-II стимулирует реакции клеточного роста, вызывая гипертрофию кардиомиоцитов и гиперплазию фибробластов, что ведет к развитию фиброза сердца, дилатации его полостей и истончению стенок (Миклишанская С.В., 2017). Ангиотензин-II является профибротическим белком, который играет центральную роль в выработке коллагена (Драпкина О.М., 2013; Григорян С.В., 2018). Активность РААС способствует прогрессированию фиброза предсердий. Ангиотензин-II, в зависимости от связывающего рецептора, действует следующим образом:

- в результате связывания ангиотензина с рецептором I типа реализуются фиброгенные эффекты за счет стимуляции пролиферации фибробластов, гипертрофии и апоптоза кардиомиоцитов;

- связывание ангиотензина с рецептором II типа стимулирует процессы накопления белков внеклеточного матрикса, которые способствуют развитию фиброза (Драпкина О.М., 2013).

Повышенная секреция альдостерона приводит к активации фибробластов, которые занимают ведущую роль в коллагенообразовании, где главным фактором является синтезируемый фибробластами высокомолекулярный гликопротеид – фибронектин. Фибронектин способен цементировать основное вещество соединительной ткани, а также участвовать в образовании межклеточных контактов между стромальными элементами (Ахмедова Д.М., 2017).

Кроме действия различных иницирующих факторов в развитии фиброза миокарда имеет значение соотношение коллагена I и III типа, в результате чего повышается жесткость миокарда (Каретникова В.Н., 2017).

Различают диффузный, очаговый и диффузно-очаговый фиброз. Диффузный фиброз развивается в интерстициальном или периваскулярном пространстве; он не сопровождается существенной потерей функционирующих клеток миокарда. Диффузный фиброз сопровождается избыточным отложением в миокарде коллагена I типа за счет преобладания процессов его синтеза над распадом (Миклишанская С.В., 2017). При развитии очагового фиброза происходит замещение погибших кардиомиоцитов соединительной тканью и сопровождается избыточным отложением коллагена III типа. Наиболее тяжелой формой фиброза миокарда является диффузно-очаговая.

Основным следствием фиброза миокарда является снижение растяжимости желудочков сердца за счет увеличения числа волокон коллагена и нарушения его свойств (Драпкина О.М., 2012).

Разрастание фиброзной ткани в межклеточном пространстве создает благоприятные условия для развития спаечного процесса в полости перикарда с последующим нарушением насосной функции сердца. Это способствует снижению притока кислорода и питательных веществ к кардиомиоцитам.

Своевременная диагностика посттрансплантационных осложнений необходима для подбора и корректировки оптимальных дозировок

иммуносупрессивной терапии и восстановления функции трансплантированного органа. На сегодняшний день стандартом определения степени и характера острого отторжения трансплантированного сердца, васкулопатии и фиброза миокарда трансплантата является эндомикардиальная биопсия (ЭМБ) и коронарографическое исследование (Готье С.В., 2014; Веревкин А.А., 2017). ЭМБ выполняются после трансплантации, в сроки, предусмотренные протоколом, а также при проявлении признаков нарушения функции трансплантированного сердца. Для проведения гистологического исследования считается адекватным наличие не менее трех биоптатов эндомикарда. Этот метод имеет ряд недостатков, в том числе ограниченность участка при получении биоптата – исследование не всегда может отражать состояние всего трансплантированного органа.

Верификация фиброза миокарда осуществляется с помощью гистопатологического анализа ткани миокарда (полученной при ЭМБ) с определением показателя коллагенообразования – объемной фракции коллагена (ОФК), рассчитываемой по данным ЭКГ и ЭхоКГ. ОФК позволяет оценить содержание и соотношение коллагена I и III типа в миокарде. Диагностическая ценность данной процедуры может быть сведена к минимуму вследствие возможной ошибки при заборе ЭМБ, так как коллаген распределен в тканях неравномерно (В.Н. Каретникова, 2017).

Вследствие того, что иннервация трансплантированного сердца нарушена, посттрансплантационные осложнения у реципиентов сердца не сопровождаются болевыми ощущениями. Для продления жизни трансплантированного органа необходимо вовремя диагностировать признаки различных осложнений после трансплантации и назначать своевременное лечение (Patel J.K., 2013).

На сегодняшний день одним из активно разрабатываемых вопросов является поиск подходов и методов неинвазивной (малоинвазивной) диагностики осложнений у реципиентов солидных органов (McMinn J.F., 2014; Grupper A., 2016; Kittleson M. M., 2016; Шевченко А.О., 2015; Шевченко О.П., 2019).

Актуальность постановки подобной задачи очевидна и связана с ростом количества трансплантаций, увеличением продолжительности жизни реципиентов с трансплантированным сердцем; с необходимостью, если не отказаться от многократно повторяемых инвазивных диагностических процедур, в первую очередь ЭМБ, то хотя бы сократить их количество, частично заменив функциональными и/или лабораторными тестами (de Boer R.A., 2015).

Определенные успехи на этом пути уже были достигнуты. Среди таковых следует упомянуть функциональный тест (iRIG сокр. от англ.«index RIGidity»), основанный на оценке упруго-эластических свойств крупных магистральных артерий при помощи ультразвукографического исследования (Насырова А.А., 2015). Этот показатель, отражающий изменения внутреннего просвета общей сонной артерии, обладает высокой чувствительностью и специфичностью в отношении отторжения сердечного трансплантата и может служить скрининговым тестом для выявления пациентов с высоким риском развития посттрансплантационных осложнений (Шевченко А.О., 2015).

Понятие «биомаркер», как количественный показатель, служащий индикатором физиологического или патологического процесса, было предложено рабочей группой Национального института здоровья США еще в 2001 году. На сегодняшний день предметом интенсивных исследований является поиск новых эффективных биомаркеров, которые позволят выявить посттрансплантационные осложнения (Schmitter D., 2014).

Мультидисциплинарный подход к наблюдению реципиентов с трансплантированным сердцем, а именно контроль концентрации биомаркеров в крови пациентов в сочетании с клиническим обследованием позволяют оценивать риск развития острого отторжения, васкулопатии трансплантата и других осложнений (Starling R.C., 2016; Brøndum L., 2016).

Внедрение в клиническую практику биомаркеров как количественных показателей и индикаторов физиологических и/или патологических процессов у реципиентов донорских органов активно развивается в течение последних двух

десятилетий (Leng S.X., 2008; Pikula A., 2012; Frangogiannis N.G., 2012; Зборовская И.Б., 2016; Ионин В.А., 2016; Dressen K., 2017).

1.2 Патогенетическое и клиническое значение биомаркеров отторжения трансплантированного сердца

Разработка неинвазивных методов выявления и стратификации риска развития острого отторжения трансплантированного сердца позволяет увеличить продолжительность жизни реципиентов за счет улучшения ранней диагностики и своевременного лечения посттрансплантационных осложнений (Wang J., 2010).

Показана перспективность оценки риска развития отторжения сердечного трансплантата с помощью измерения концентрации в периферической крови различных биомаркеров (Martinez-Dolz L., 2009; Stephen L., 2017). С учетом многофакторности поражения клеток и тканей трансплантированного сердца, с использованием концепции мультимаркерности созданы панели лабораторных тестов, методической основой которых является технология мультиплексного анализа (Dunlay S.M., 2009; Терещенко С.Н., 2017; Метельская А.В., 2018).

Ниже представлены данные о различных биомаркерах, которые непосредственно связаны, или предположительно могут быть связаны, с развитием посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца.

Растворимая форма лиганда CD40 (sCD40L)

Молекула CD40 относится к семейству фактора некроза опухолей, представляет собой фосфорилированный трансмембранный гликопротеин и продуцируется различными типами клеток крови и сосудистой стенки (в т.ч. клетками атеросклеротической бляшки). Активированные тромбоциты являются основными источниками циркулирующей в крови части молекулы CD40 – растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L). Повышение уровня в плазме крови sCD40L служит индикатором воспаления (Dressen K., 2017). Имеются данные об участии sCD40L в развитии острого клеточного отторжения у реципиентов сердца. Согласно работам Шевченко О.П. и соавт. более высокие уровни sCD40L

наблюдались у реципиентов сердца с острым клеточным (3А) и персистирующим отторжением (Шевченко О.П., 2012).

Факторы роста эндотелия сосудов VEGF

VEGF-A и VEGF-D – белки, относящиеся к семейству факторов роста эндотелия сосудов VEGF. Молекула VEGF обнаруживается во многих органах человека и продуцируется различными типами клеток, в т.ч. макрофагами, фибробластами, лимфоцитами, тромбоцитами и др. Имеются исследования о прогностической роли VEGF-A в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений (Richter В., 2013). Последние работы показали роль VEGF-A в развитии острого и хронического отторжения трансплантированного сердца. Исследования Abramson L.P. и соавт. выявили повышенную экспрессию VEGF у реципиентов с острым клеточным отторжением после трансплантации сердца, нежели у реципиентов без такового. Концентрация исследуемого цитокина в плазме крови у реципиентов сердца снижалась после проведения соответствующей иммуносупрессивной терапии (Abramson L.P., 2002).

Плацентарный фактор роста – PlGF

Плацентарный фактор роста (PlGF) впервые был обнаружен в ткани плаценты. Этот цитокин имеет четыре изоформы и представляет собой гетеродимерный гликопротеид. PlGF участвует в регуляции роста эндотелия сосудов и инициирует воспалительный процесс в сосудистой стенке (Breen E.J., 2015). Уровень этого биомаркера повышается в плазме крови пациентов при различных патологических состояниях, в особенности – при образовании и развитии опухолей. Последние исследования показали его связь с развитием атеросклероза; высокие его уровни связаны с неблагоприятным отдаленным прогнозом у больных ишемической болезнью сердца. Исследования Шевченко О.П. и соавт. показали, что у реципиентов сердца этот маркер является предиктором развития сердечно-сосудистых осложнений – его повышенная

экспрессия в первый год после ТС связана с развитием осложнений в более поздние сроки (Шевченко О.П., 2015).

Стаханова Е.А. и соавт. разработали диагностический комплекс, состоящий из мультимаркерной панели – VEGF-A, PlGF-1 и sCD40L. Анализ концентрации этих биомаркеров, отражающих активность процессов неоангиогенеза, воспаления, тромбообразования, наряду и в сочетании с клиническими обследованиями, результатами коронарографии и эндомиокардиальной биопсии, позволяют прогнозировать еще на этапе дооперационного обследования риск развития и прогрессирования васкулопатии и острого отторжения трансплантированного сердца. Установлено, что выявление уровня этих биомаркеров у реципиента сердца выше их пороговых значений (VEGF-A > 317 пг/мл, PlGF-1 > 5,33 пг/мл и sCD40L > 671 пг/мл) указывает на повышенный риск развития острого клеточного отторжения трансплантата (Стаханова Е.А., 2015).

Хемоаттрактантный белок макрофагов – MCP-1

Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1) – член подсемейства β семейства хемокинов C-C. Он продуцируется эпителиальными и гладкомышечными клетками сосудов, фибробластами, лимфоцитами, моноцитами в ответ на стимуляцию противовоспалительными цитокинами. MCP-1 отсутствует в клетках здоровых тканей. Предположительно MCP-1 связан с острым и хроническим отторжением сердца, васкулопатией трансплантата, а также с повреждением сосудов при ишемии после ТС (Biancotto A., 2013).

Фактор роста тромбоцитов PDGF-BB

Молекула PDGF-BB является одной из 5 возможных изоформ гидрофильного белка – фактора роста тромбоцитов PDGF. PDGF синтезируется в тромбоцитах, фибробластах, эндотелиальных клетках и клетках гладкой мускулатуры и обладает сильным хемотаксическим действием в отношении фибробластов, лейкоцитов и моноцитов – что предполагает его участие в воспалительных реакциях после ТС (Шевченко О.П., 2016). Фактор роста

тромбоцитов вызывает миграцию нейтрофилов, моноцитов, фибробластов, активацию макрофагов и последующий синтез коллагена, а также оказывает антиапоптозный эффект на кардиомиоциты. Исследования Jungbauer С.С. и соавт. показали, что при хроническом отторжении в организме реципиентов сердца PDGF активирует макрофаги и стимулирует продукцию моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 на фибробластах трансплантата (Jungbauer С.С., 2014).

Стимулирующий фактора роста ST2

ST2 (стимулирующий фактор роста-2) – член семейства рецепторов интерлейкина-1 (IL-1), имеет 4 изоформы. ST2 экспрессируется в кардиомиоцитах в ответ на развитие патологических процессов и различных механических повреждений (Lee G.Y., 2016). В экспериментальных исследованиях, проводимых на мышах, было обнаружено, что при отторжении сердечных аллотрансплантатов наблюдалась повышенная экспрессия растворимой формы – sST2 (Ciccione M.M., 2013). Pascual-Figal с соавт. исследовали связь sST2 с острым отторжением у реципиентов сердца. При этом было обнаружено, что концентрация sST2 коррелирует с тяжестью развивающегося отторжения (Pascual-Figal D.A., 2011). В исследованиях Januzzi и соавт. установлена связь sST2 с острым клеточным отторжением трансплантированного сердца, а также показана возможность прогнозировать смертность реципиентов в отдаленном периоде (Januzzi J.L., 2013).

Согласно исследованиям Аксеновой А.В. и соавт. содержание ST2 в плазме крови реципиентов сердца, определяемое в день взятия ЭМБ, было выше у пациентов с наличием гистологических признаков острого клеточного отторжения, а повышенное содержание в крови тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB) было связано с наличием иммуногистохимических признаков острого гуморального отторжения (Аксенова А.В., 2017). Авторам удалось разработать панель из ST2 и PDGF-BB для выявления лиц, у которых риск развития острого

отторжения трансплантированного сердца в 4,6 раза выше, чем у других реципиентов.

Представленные исследования создают основу для персонифицированного подхода к патогенетически обоснованной терапии пациентов с трансплантированным сердцем, что, несомненно, важно для улучшения ближайших и отдаленных результатов трансплантации сердца (Шевченко О.П., 2015). Поиск новых биомаркеров и разработка неинвазивных методов позволит улучшить доклиническую диагностику осложнений у пациентов с трансплантированным сердцем.

1.3 Биомаркеры фиброза миокарда

Фиброз сердца является одним из ключевых компонентов в патогенезе СН. Для диагностики фиброза миокарда в качестве альтернативы ЭМБ применяются неинвазивные методы, в том числе МРТ сердца с исследованием интерстициального пространства миокарда посредством измерения его внеклеточного объема (Григорян С.В., 2018). Однако, на сегодняшний день стандартом выявления фиброза миокарда трансплантата остается ЭМБ.

В настоящее время особое внимание уделяется выявлению биологических агентов – биомаркеров, способных, с одной стороны, индуцировать фиброз, с другой – быть индикаторами риска негативных событий, связанных с его развитием (Kartoge S., 2013; Ahmad T., 2015).

Особый интерес представляет выявление биомаркеров фиброза миокарда в периферической крови пациента (Frangoginnis N.G., 2012). Главная задача биомаркеров – отражать наличие и степень выраженности фиброза миокарда, а также представлять ценность при выявлении ССЗ.

Факторами, участвующими в регуляции фиброгенеза, являются С-концевой пропептид проколлагена типа I (PICP), С-концевой телопептид коллагена типа I (CITP), матриксная металлопротеиназа (ММР-1) и тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ (ТИМР-1) (Драпкина О.М., 2013; Lok S.I., 2015, Овчинников А.Г., 2015). Известными биомаркерами, концентрация которых в

плазме крови пациентов связана с развитием фиброза, являются трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF-beta1) – маркер активности фибробластов (Labarrere С.А., 2012; Patel J.К., 2013; Mueller Т., 2016, Миклишанская С.В., 2017; Григорян С.В., 2018), N-терминальный участок мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), синтез прогормона которого происходит в кардиомиоцитах и кардиальных фибробластах (Milting Н., 2008; Lok S.I., 2015), а также недавно описанный индикатор риска развития фиброза – галектин-3 (Lok D.J.A., 2010; Dang Z., 2012). В эксперименте на лабораторных животных, установлено, что в ответ на стимуляцию альдостероном макрофаги начинают экспрессию галектина-3, который является стимулом пролиферации фибробластов и выработки коллагена в миокарде (de Boer R.A., 2012; Деева Т. А., 2012).

Важным фактором в развитии фиброза миокарда является превращение фибробластов в миофибробласты, характеризующееся удвоенной скоростью синтеза коллагена. Миофибробласты более чувствительны к провоспалительным и профибротическим стимулам и способны синтезировать большее количество разнообразных цитокинов и хемокинов (Каретникова В.Н., 2017). В норме миофибробласты отсутствуют в ткани сердца, за исключением створок клапанов. Образованию миофибробластов способствуют несколько цитокинов и факторов роста, в том числе трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) (С.В. Миклишанская, 2017).

Синтез и деградация коллагена обеспечиваются, в первую очередь, с помощью факторов регуляции – среди которых наиболее мощными активаторами синтеза коллагена фибробластами являются ангиотензин-II и TGF- β (С.В. Миклишанская, 2017). Трансформирующий фактор роста- β является главным цитокином, оказывающим стимулирующий эффект на продукцию коллагена.

Существует три основные изоформы цитокина TGF- β (TGF- β I, TGF- β II, TGF- β III), среди которых наибольшее биологическое и патологическое действие оказывает TGF- β I (Biancotto A., 2013).

Цитокин TGF- β I является многофункциональным профибротическим протеином, который секретируется как фибробластами, так и кардиомиоцитами и достаточно активно влияет на синтез и состав белков внутриклеточного матрикса. Основными кардиальными эффектами TGF- β I являются: гипертрофия, фиброз и апоптоз. Избыточный синтез цитокина TGF- β I способствует усилению синтеза внеклеточного субстрата и прогрессированию фиброза (Vorovich E., 2014). TGF- β I принимает участие в образовании рубцовой ткани вследствие инфаркта миокарда, а также после перенесенного миокардита, при формировании гипертрофии миокарда и стабилизации атеросклеротической бляшки. У пациентов с фибрилляцией предсердий уровень TGF- β I значительно выше, чем у пациентов с синусовым ритмом. Имеются предположения о гиперсекреции активного TGF- β I, которая может привести к избирательному фиброзу предсердий, гетерогенности проводимости возбуждения, что способствует возникновению и прогрессированию фибрилляции предсердий. Активация TGF- β I рецепторов активирует фактор роста соединительной ткани, что способствует стимуляции синтеза белков внеклеточного субстрата (Ahmad T., 2015). Можно предположить о роли активации синтеза фибриллярного и нефибриллярного коллагена в увеличении предсердного фиброза и прогрессированию фибрилляции предсердий. Значительный интерес представляет тесная взаимосвязь между уровнем цитокина TGF- β I и активностью РААС: ангиотензин-II стимулирует синтез цитокина TGF- β I; активность цитокина TGF- β I усиливает синтез ангиотензина-II – таким образом формируется цикл прямой связи между профибротическим цитокином и РААС (Lok S.I., 2015).

Последние достижения в области секвенирования, биоинформатики и геномики определяют важность понимания механизмов, вовлеченных в экспрессию и регуляцию генов. Одним из ключевых компонентов регуляции функционирования клеток являются небольшие рибонуклеиновые кислоты. МикроРНК представляют собой семейство эндогенных небольших некодирующих одноцепочечных РНК длиной приблизительно 22 нуклеотида, которые действуют как регуляторные элементы посттранскрипционных генов.

Экспрессия некоторых микроРНК связана с рядом патологических процессов, таких как нарушение обмена веществ, аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования и отторжение трансплантированных органов (Sayed D., 2011).

Особое внимание исследователей в настоящее время сфокусировано на микроРНК, регулирующих экспрессию генов, принимающих участие в отторжении и фиброзе трансплантированных органов (Shan J., 2011).

Важная регуляторная роль микроРНК в развитии патологических процессов описана во многих исследованиях последних лет, что стимулирует активное изучение аналитов с позиции их потенциальной значимости как биомаркеров осложнений у реципиентов с трансплантированными органами (El-Kott A.F., 2019).

Были описаны достоверные отличия в экспрессии микроРНК-101, микроРНК-142 у здоровых лиц и пациентов с заболеваниями сердца и легких (Yuchuan H., 2014). Было показано, что у пациентов с идиопатическим легочным фиброзом микроРНК-101 ингибирует пролиферацию и активацию фибробластов, являясь потенциальной терапевтической мишенью при фиброзе легких и сердца (Huang C., 2017). Опубликованы данные о возможном участии микроРНК-142 в регуляции гемопоеза, кроме того этот вид микроРНК экспрессируется во многих тканях и выполняет важные функции в воспалительных, иммунных процессах после пересадки донорских органов (Shrestha A., 2017).

В настоящее время фиброз миокарда считается основой неблагоприятного течения ССЗ с последующим развитием сердечной недостаточности. Верификация фиброза миокарда, изучение скорости его прогрессирования, оценка антифибротической эффективности проводимой терапии представляют несомненную научную и практическую ценность. Исследование профибротических биомаркеров может существенно повысить возможности в прогнозировании развития и прогрессирования фиброза миокарда, а также в оценке эффективности проводимого лечения у пациентов с фиброзом миокарда.

1.4 Галектин-3 – новый биомаркер сердечной недостаточности и фиброза миокарда

Галектин-3 (Mac-2, CBP-35, L29, LBP) относится к семейству β -галактозидсвязывающих белков, которые играют важную роль в регуляции процессов воспаления, иммунного ответа, дегенерации нервной ткани и фиброза (Hoyer K.K., 2004; Dunic J., 2006; Diaz-Alvarez L., 2017) Каждый галектин имеет индивидуальный активный углеводспецифичный центр, локализованный в ядре или в цитоплазме. В начале 1980 года группой ученых под руководством Wang T.L. впервые был выделен галектин-3 из фибробластов человека. В 1994 году была систематизирована номенклатура галектинов: каждый член этого семейства назван по номерам в порядке своего открытия (Wang T.L., 2010). На сегодняшний день известно 15 видов, относящихся к данному семейству белков, характерных для млекопитающих – у человека обнаружены лишь 11 видов (галектин-1-4, 7-10, 12, 13 и 14). Галектин-3 имеет молекулярную массу 35-кДа. Галектин-3 экспрессируется многими клетками – нейтрофилами, макрофагами, эозинофилами, остеокластами, а также фибробластами миокарда и др. Его экспрессия наиболее выражена в легких, желудке, кишечнике, матке, надпочечниках, в меньшей степени – в сердце, печени, почках, головном мозге и поджелудочной железе (de Boer R.A., 2011; Васильева О. А., 2011, Целуйко В. Й., 2013).

В структуре молекулы галектина-3 различают два функциональных домена – N-концевой (регуляторный) домен и C-концевой (углеводсвязывающий) домен, связанных между собой углеводраспознающим доменом (Lok D.J.A., 2010; Desmedt S., 2016). Галектин-3, вследствие его пространственной конфигурации и химической структуры, обладает способностью к распознаванию молекул углеводов и коллагенподобных доменов, что позволяет ему взаимодействовать с широким спектром внеклеточных веществ – углеводами, белками, а также негликозилированными молекулами и внеклеточными рецепторами (de Boer R.A., 2012; Meijers W.C., 2016).

Механизм действия галектина-3 может быть различным в зависимости от его локализации: внутри клетки он позволяет защитить клетки от апоптоза, вне клетки его действие, напротив, способствует гибели клеток. Исследователями под руководством *Dumic J.* установлено, что внутриклеточный галектин-3 защищает клетку от апоптоза, индуцированного Fas-лигандом или ингибитором протеинкиназ. А экстрацеллюлярно расположенный галектин-3, напротив, может вызвать гибель клеток. Галектин-3 также может инициировать клеточный рост, дифференцировку, адгезию, хемоаттракцию и миграцию клеток; кроме того, он может быть вовлечен в контроль клеточного цикла. (*Dumic J.*, 2006).

Галектин-3 играет важную роль в защите организма от различных патогенов: он, обладая хемотаксическими свойствами по отношению к макрофагам и моноцитам, индуцирует адгезию нейтрофилов и высвобождение провоспалительных факторов лейкоцитов и тучных клеток; участвует в фагоцитозе (*Малинова Л.И.*, 2015; *Анкудинов, А. С.*, 2015). Было обнаружено, что в месте повреждения галектин-3 секретируется во внеклеточное пространство, что стимулирует процесс фиброза через активацию и размножение фибробластов, находящихся в покое.

На сегодняшний день галектин-3 является одним из наиболее перспективных биомаркеров сердечной недостаточности. Предположительно, галектин-3 в первую очередь, может быть использован для оценки тяжести сердечной недостаточности. В отличие от других биомаркеров, концентрация галектина-3 в крови пациента быстро меняется, что позволяет своевременно скорректировать лечение.

Экспрессия галектина-3 увеличивается при развитии фиброза и снижается после приема лекарственных препаратов, плановое измерение уровня биомаркера у пациентов с СН может использоваться для выявления лиц с высоким риском повторной госпитализации (*Binas D.*, 2018). *Gandhi P.U.* с соавт. исследовали концентрацию галектина-3 во время лечения хронической СН антагонистами минералкортикоидных рецепторов. В исследование, проводимое на протяжении 10 месяцев были включены 151 пациент, которых распределили на группы по

исходным показателям уровня галектина-3 и влиянию лечения на развитие нежелательных сердечно-сосудистых событий. Хотя статистический анализ не выявил наличия связи между уровнем галектина-3 в плазме крови и применением антагонистов минералкортикоидных рецепторов, авторы делают заключение о необходимости дополнительных клинических исследований роли галектина-3 в подборе лечебной терапии у больных СН (Gandhi P.U., 2015).

Одно из первых исследований галектина-3 при СН было выполнено *van Kimmenade R.R.* и соавт. Исследование диагностического и прогностического значения галектина-3 по сравнению с уже зарекомендовавшим себя в клинической практике натрийуретическим пептидом (NT-proBNP) показало, что галектин-3 обладал лучшей прогностической значимостью в отношении 60-ти дневной смертности в сравнении с NT-proBNP. При совместном определении галектина-3 с NT-proBNP прогностическая значимость второго повышалась; а увеличение концентрации обоих биомаркеров наблюдалось у пациентов с высоким риском госпитализации или смертности (Kimmenade R.R., 2006).

Исследование 190 пациентов с инфарктом миокарда и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) провели *Medvedeva E.A.* с соавт. У всех пациентов в плазме крови были определены уровни следующих биомаркеров: галектин-3, NT-proBNP, С-реактивный белок, IL-6, цистатин-С и др. Было установлено, что галектин-3 является наиболее чувствительным и специфичным биомаркером для определения риска смерти у пациентов с ХСН: уровень галектина-3 повышается у всех пациентов, независимо от функционального класса СН по NYHA. Было обнаружено, что экспрессия галектина-3 повышена у пациентов с острой и хронической СН (Medvedeva E.A., 2016).

В ходе исследования *Lok D.J.A.* и соавт. был обнаружен повышенный уровень галектина-3 и NT-proBNP у пациентов с СН и выраженным нарушением функции почек (Lok D.J.A., 2009). *Felker G.M.* с соавт. у пациентов с СН установили достоверную связь между уровнем галектина-3 и тяжестью почечной дисфункции (Felker G.M., 2010, 2012). Однако, уровень галектина-3 может быть также увеличен у пациентов с онкологическими заболеваниями, фиброзом

печени, аутоиммунными заболеваниями, что требует осторожности при интерпретации результатов его определения.

Установлено, что величина уровня галектина-3 в плазме крови более 17,8 нг/мл связана с повышенным риском развития неблагоприятного исхода у пациентов, страдающих СН (Lok D.J.A., 2010; Qiu-Sheng Y., 2014).

Галектин-3 может иметь прогностическое значение в отношении развития отдаленных нежелательных событий у пациентов, страдающих СН с сохраненной фракцией выброса левого желудочка (Малинова Л.И., 2015). Установлена зависимость между уровнем галектина-3 и течением СН: при уменьшении тяжести заболевания наблюдается снижение концентрации биомаркера и, наоборот, повышение уровня галектина-3 указывает на прогрессирование СН (Coromilas E., 2016).

В исследованиях *Beiras-Fernandes A.* с соавт. обнаружена повышенная экспрессия галектина-3 у пациентов с терминальной стадией СН, которые были поставлены в лист ожидания на трансплантацию сердца, по сравнению со здоровыми добровольцами. Уровень галектина-3 в плазме крови был выше у пациентов с СН и коррелировал с фракцией выброса левого желудочка. Таким образом, определение уровня галектина-3 может быть потенциально значимо в отношении прогноза нежелательных сердечно-сосудистых событий (Beiras-Fernandes A., 2013).

Отечественными учеными под руководством *Заславской Е.Л.* была исследована роль TGF- β I и галектина-3 в формировании фиброза. Согласно полученным результатам повышенная экспрессия биомаркеров коррелировала со степенью выраженности фиброза миокарда левого предсердия у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий (Заславская Е.Л., 2018).

На основании опубликованных работ, посвященных патогенетическому и клиническому значению галектина-3 в развитии сердечной недостаточности, можно констатировать, что к настоящему времени галектин-3 является новым цитокином, связанным с развитием и тяжестью сердечной недостаточности, а также с развитием и степенью выраженности фиброза миокарда.

1.5 Результаты исследований галектина-3 у реципиентов сердца

Предположительно, измерение уровня галектина-3 при трансплантации сердца может иметь диагностическое и прогностическое значение для оценки риска развития посттрансплантационных осложнений (Martinez-Dolz L., 2009; Maisel A., 2016; Suarez-Fuentetajaa N., 2018). В ряде исследований было показано, что галектин-3, секретируемый активированными макрофагами, участвует в различных клеточных процессах, включающих пролиферацию, миграцию, и апоптоз.

Было показано, что галектин-3 связан с развитием фиброза и процессами ремоделирования в сердце (van Kimmenade R.R., 2006; McCullough P., 2014). Повышенные уровни галектина-3 связаны с дисфункцией левого желудочка и плохим прогнозом у пациентов с сердечной недостаточностью, а также у лиц с повышенным риском возникновения СН и смертности среди населения в целом (Kennel P.J., 2015; Starling R.C., 2016; Базаева Е. В., 2015).

Franekova J. с соавт. исследовали значения ряда биомаркеров, оказывающих влияние на развитие следующих процессов после ТС: фиброза миокарда (галектин-3), сердечной недостаточности (NT-proBNP), кардиоренального синдрома (цистатин С) и некроза кардиомиоцитов (hsTnT – высокочувствительный тропонин Т). В исследование был включен 121 пациент, у которых оценивали следующие показатели: фракция выброса левого желудочка, наличие отторжения и выживаемость в течение года после ТС. Измерение концентрации биомаркеров в плазме крови проводили спустя 10 суток и через год после операции. Через год после ТС уровни цистатина С, тропонина Т и галектина-3 были повышены у лиц со сниженной фракцией выброса левого желудочка. Ни один из исследуемых биомаркеров не был связан с развитием отторжения трансплантированного сердца (Franekova J., 2015).

Grupper A. и соавт. исследовали динамику концентрации галектина-3 в сыворотке крови реципиентов сердца. Уровень галектина-3 измеряли у 62-х пациентов до и спустя год после ТС. Уровень галектина-3 был достоверно выше установленного значения (17,8 нг/мл), используемого для стратификации риска

СН, у 35 пациентов, перенесших ТС. Была выявлена обратная корреляция между уровнем галектина-3 и скоростью клубочковой фильтрации как до, так и после ТС. Не было обнаружено связи между уровнем галектина-3, наличием гипертрофии миокарда и интерстициального фиброза после ТС. Результаты исследования позволили предположить, что галектин-3 является скорее системным, нежели кардиоспецифическим биомаркером (Grupper A., 2016).

Suarez-Fuentetaja N. и соавт. обследовали 122 реципиента до и после трансплантации. Измерение уровня галектина-3 в сыворотке крови проводили через 1, 3, 6 и 12 месяцев после ТС. Было выявлено снижение концентрации галектина-3 у реципиентов сердца в течение первого года жизни после трансплантации, однако, повышенная концентрация галектина-3 ($\geq 17,8$ нг/мл) в сыворотке крови реципиента в течение первого года после операции свидетельствовала о наличии недостаточности трансплантата и повышенного риска смертности от всех причин в отдаленном периоде (Suarez-Fuentetaja N., 2018).

Coromilas E. и соавт. при обследовании реципиентов сердца до и после трансплантации выявили снижение концентрации галектина-3 в плазме крови у реципиентов после трансплантации с течением времени. Было установлено, что уровень галектина-3 в плазме крови пациента связан с сердечной недостаточностью. Повышение уровня галектина-3 после трансплантации было связано с гипертрофией кардиомиоцитов и фиброзом миокарда трансплантата. Анализ уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов выявил значительную разницу в концентрациях данного биомаркера у реципиентов с васкулопатией трансплантата и без таковой. Учитывая непосредственное влияние фиброза в патогенезе развития васкулопатии трансплантата, авторы намерены проводить дальнейшие исследования галектина-3, как потенциального прогностического маркера у реципиентов с сердечной недостаточностью и после трансплантации (Coromilas E., 2016).

1.6 Заключение

За последние годы достигнут значительный прогресс в выживаемости пациентов с трансплантированным сердцем, однако в отдаленном периоде у реципиентов нередко развивается субклиническая сердечная недостаточность, ключевым компонентом которой является фиброз миокарда трансплантата. Механизмы, лежащие в основе фиброза, остаются сложными и не вполне изученными.

К настоящему времени идентифицирован ряд биомаркеров, потенциально связанных с развитием фиброза. Галектин-3 является недавно описанным биомаркером СН и риска развития фиброза миокарда у пациентов с ССЗ.

Опубликованные в последние годы данные позволяют полагать, что повышенная экспрессия галектина-3 при скрытом ССЗ может иметь диагностическое значение (Lok D., 2010; Motiwala S.R., 2013). Экспрессия галектина-3 минимальна или практически отсутствует у здоровых лиц, а также у пациентов во время ремиссии или в компенсированной стадии заболевания (O'Seaghdha S.J., 2013). Экспрессия галектина-3 максимальна на пике формирования фиброза и воспаления. Имеются данные о потенциальной связи галектина-3 с развитием посттрансплантационных осложнений, однако требуются дополнительные исследования (Beiras-Fernandez A., 2013).

На основании результатов анализа опубликованных данных было предпринято настоящее исследование, состоящее из нескольких основных этапов.

Во-первых, изучено содержание галектина-3 в плазме крови пациентов с терминальной сердечной недостаточностью, проведен анализ с аналогичными данными у здоровых лиц, проанализированы возможные корреляции и зависимости с клиническими, демографическими и спектром лабораторных данных (биомаркеров), исследована динамика галектина-3 после трансплантации у реципиентов сердца.

Во-вторых, выявлена связь уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца с верифицированными по данным гистологических и иммуногистохимических исследований эпизодами острого отторжения

трансплантата. Изучена связь уровня галектина-3 с наличием гистологических признаков фиброза трансплантированного сердца, верифицированных на основании ЭМБ, в ранний и отдаленный периоды после трансплантации.

В завершении было оценено диагностическое значение галектина-3 в отношении острого отторжения и фиброза трансплантированного сердца в разные сроки после трансплантации на основании анализа ROC-кривых, расчета чувствительности и специфичности тестов, определения диагностически значимых пороговых значений концентраций.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика пациентов, включенных в исследование

В исследование включены 124 пациента с сердечной недостаточностью III – IV функционального класса по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) в возрасте от 16 до 71 (в среднем 48 ± 12) года, из них 106 (85%) – мужчин и 18 (15%) – женщин, которым в период с января 2013 по сентябрь 2016 годы в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова выполнена ортотопическая трансплантация сердца. У 67 реципиентов (51 мужчин и 16 женщин, от 16 до 71, 41 ± 12 лет) до ТС диагностирована дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), у 57 (55 мужчин и 2 женщины, от 37 до 70, 57 ± 8 лет) – ишемическая болезнь сердца (ИБС) (Таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика обследованных пациентов с ДКМП и ИБС

<i>Параметр</i>	<i>ДКМП</i>	<i>ИБС</i>
<i>Количество пациентов, n</i>	67	57
<i>Возраст, лет</i>	от 16 до 71	от 37 до 70
<i>диапазон вариаций ср.знач. \pm ст.откл.</i>	41 ± 12	57 ± 8
<i>Достоверность различий</i>		$p=0,000^*$
<i>Пол</i>		
<i>мужчины, n</i>	51	55
<i>женщины, n</i>	16	2

* – достоверность значений (p) в сравнении с пациентами ДКМП

Отбор больных, их обследование и последующее лечение проводились в специализированных отделениях НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова: в кардиологическом отделении (зав. отделением – к.м.н. Н.Н. Колоскова), отделениях кардиохирургических № 1 (зав. отделением – д.м.н., профессор Р.Ш. Сайтгареев), № 3 (зав. отделением – д.м.н. В.М. Захаревич).

Период наблюдения реципиентов после ТС включал: ранний период – первый месяц после ТС (от 1 до 51, 30 ± 14 суток), отдаленные сроки – спустя год

после ТС (от 127 до 398, 334 ± 69 суток) и спустя 1-5 лет после ТС, (от 400 до 1664, 963 ± 273 суток).

Все реципиенты получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включающую комбинацию ингибиторов кальциневрина (такролимус) и цитостатиков (микофенолата мофетил или микофеноловая кислота), а также варьирующие дозы преднизолона перорально, в зависимости от сроков после операции и частоты эпизодов отторжения трансплантата и адьювантную медикаментозную терапию по показаниям.

2.2 Методы обследования пациентов

Все пациенты, имеющие показания к ТС, проходили плановое обследование согласно протоколу ведения пациентов в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова и Национальным клиническим рекомендациям «Трансплантация сердца и механическая поддержка кровообращения». Плановое обследование после трансплантации включало клинический осмотр, термометрию, вирусологическое и бактериологическое исследования, динамику изменений общих и биохимических показателей крови с определением концентрации такролимуса, суточное мониторирование артериального давления, эхокардиографическое исследование, биопсии миокарда, ежегодное коронароангиографическое исследование.

Верификацию острого отторжения и фиброза миокарда трансплантата производили на основании исследования образцов эндомикардиальной биопсии (отделение рентгеноэндоваскулярной диагностики и хирургического лечения – зав. отделением профессор Б.Л. Миронков). ЭМБ выполняли путем трансвенозного доступа из полости правого желудочка сердца. ЭМБ пациентам проводились в раннем послеоперационном периоде и отдаленно после выписки пациента из стационара, согласно протоколу ведения реципиентов сердца или по показаниям в соответствии с рекомендациями Российского трансплантологического общества.

Полученный материал подлежал дальнейшему гистологическому и иммуногистохимическому исследованию (отделение патологоанатомическое – зав. отделением к.м.н. Н.П. Можейко).

2.3 Анализ концентраций биомаркеров в плазме крови пациентов

В качестве материала для исследования концентрации исследуемых биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений, использовали плазму венозной крови, взятой одновременно с плановым обследованием пациентов.

Кровь собиралась в одноразовые пробирки (BD Vacutainer, Becton Dickinson, США) и центрифугировалась в течение 10 минут при 3500/1500 g оборотах при комнатной температуре. Полученная плазма замораживалась и хранилась при температуре -20°C.

Мультиплексный анализ

Определение концентрации VEGF-D, VEGF-A, PlGF, PDGF-BB, MCP-1, sCD40L в плазме крови реципиентов сердца

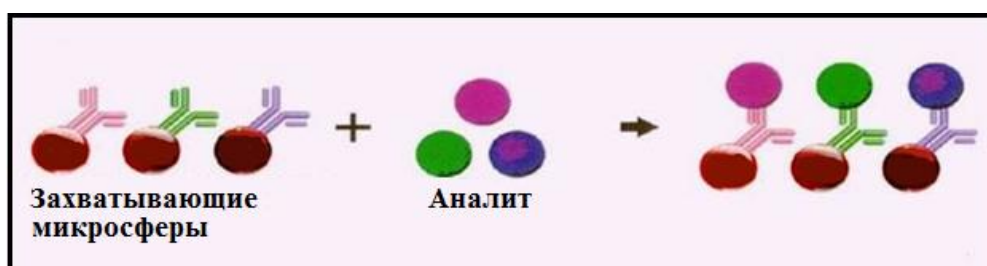
Для настоящего исследования была сформирована мультиплексная панель на основе наборов реагентов Simplex ProcartaPlex™ для одномоментного определения в одном образце следующих биомаркеров: факторы роста эндотелия сосудов – VEGF-D и VEGF-A, плацентарный фактор роста – PlGF, фактор роста тромбоцитов – PDGF-BB, хемоаттрактантный белок макрофагов – MCP-1, растворимая форма лиганда CD40 – sCD40L.

Мультиплексный метод является технологической базой для мультимаркерного анализа (S.X. Leng, 2008). Мультиплексная технология объединяет принцип проточной флуориметрии и иммуноферментного анализа, с применением магнитных микросфер из полистирола, маркированных красными и инфракрасными флуорофорами, нагруженных специфическими антителами. Проточный флуоресцентный анализатор Luminex сочетает в себе двухлазерную систему и цифровую обработку сигналов для детекции результатов

мультиплексного анализа в одном образце. Для обслуживания прибора и обработки результатов анализа использовалось программное обеспечение xPONENT 3.1.

Мультиплексный анализ биомаркеров состоит из трех этапов: захват исследуемых аналитов, детектирование захваченного аналита и детектирование метки.

Первый этап мультиплексного анализа представлен на рисунке 1.



**Рисунок 1 – Первый этап мультиплексного анализа.
Захват исследуемых аналитов**

На первом этапе проводится инкубация микросфер с плазмой крови. После чего выполняется отмывка не связавшихся с микросферами компонентов образца.

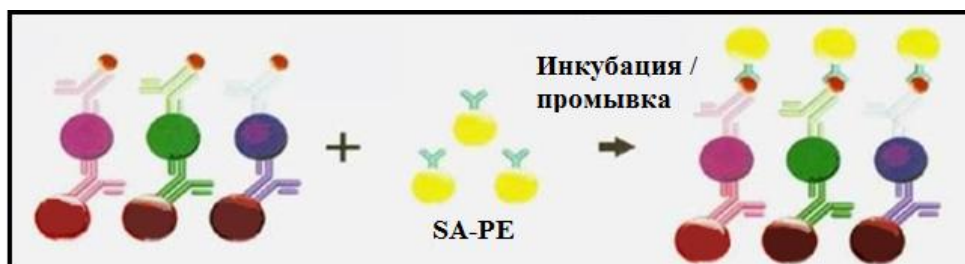
Второй этап мультиплексного анализа представлен на рисунке 2.



**Рисунок 2 – Второй этап мультиплексного анализа.
Детектирование захваченного аналита**

На втором этапе мультиплексного анализа комплекс «аналит-микросферы» инкубируют с детекторными антителами. Выполняется отмывка не связавшихся компонентов и к образовавшемуся «сэндвичу» добавляют флуоресцентный краситель, способный связываться с биотиновой меткой на детекторных антителах.

Третий этап мультиплексного анализа представлен на рисунке 3.



**Рисунок 3 – Третий этап мультиплексного анализа.
Детектирование метки**

На третьем этапе мультиплексного анализа проводят считывание сигналов флуорисцентных меток в анализаторе Luminex, где одновременно анализируется тип микросферы, наличие и количество искомого аналита на соответствующем типе частиц. С помощью программного обеспечения xPONENT 3.1 результаты исследования визуализируются на схеме различной интенсивностью окраски соответствующей ячейки и данными о рассчитанной величине концентрации аналита, перерасчитанной в соответствующие показатели концентрации (пг/мл).

Иммуноферментный анализ

Определение концентрации ST2 в плазме крови реципиентов сердца

Измерение концентрации стимулирующего фактора роста – ST2 проводили с использованием набора реагентов Critical Diagnostics Presage® ST2 Assay (США), основанный на методе твердофазного иммуноферментного анализа. В подготовленные для работы планшеты с фиксированными на дне лунок моноклональными антителами к ST2 добавляли заранее подготовленные калибраторы, контроли и разведенные, согласно инструкции, образцы плазмы крови пациентов. Инкубация микропланшета проводилась в соответствии с инструкцией, представленной фирмой-производителем реагентов. Затем проводилась трехкратное отмывание планшета от несвязавшихся компонентов реакции и внесение биотинилированных антител к ST2 в каждую лунку планшета. Повторная инкубация микропланшета, трехкратное отмывание универсальным буфером и внесение рабочего раствора конъюгата (стрептавидин-HRP) в каждую лунку микропланшета. Инкубация с конъюгатом при постоянном встряхивании.

После последнего этапа отмывания на заключительном этапе для выявления ферментной метки в планшет вносили ТМБ-субстрат. Инкубация проводилась в темноте при постоянном встряхивании. Реакцию останавливали с помощью стоп-реагента. Интенсивность изменения цвета реакгентной смеси прямо коррелировала с концентрацией ST2 в исследуемом образце. Оптическую плотность при длине волны 450 нм измеряли на спектрофотометре.

2.4 Измерение концентрации галектина-3 в плазме крови пациентов

Концентрацию галектина-3 измеряли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов Human Galectin-3 Platinum ELISA (Bender MedSystems GmbH, Вена, Австрия).

Определение проводили в соответствии с инструкцией к набору.

В подготовленные для работы планшеты с фиксированными на дне лунок моноклональными антителами к галектину-3, добавляли заранее подготовленные калибраторы, контроли и разведенные в 2 раза специальным буфером образцы плазмы крови пациентов. Инкубировали микропланшет при комнатной температуре (18-25°C) в течение 60 минут при встряхивании со скоростью 400 оборотов в минуту. После четырехкратного отмывания планшета от несвязавшихся компонентов реакции в каждую лунку вносили по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (стрептавидин-HRP). Инкубировали планшет при комнатной температуре (18-25°C) в течение 60 минут при встряхивании со скоростью 400 оборотов в минуту.

После последнего этапа отмывания на заключительном этапе для выявления ферментной метки в планшет вносили по 100 мкл ТМБ-субстрата. Время инкубации составило 30 минут в темноте. Реакцию останавливали с помощью стоп-реагента (по 100 мкл в лунку). Интенсивность изменения цвета реакгентной смеси прямо коррелировала с концентрацией галектина-3 в исследуемом образце. Оптическую плотность при длине волны 450 нм измеряли на спектрофотометре.

Пример калибровочной кривой для определения концентрации галектина-3, построенной на основе семи стандартных калибраторов, представлен на рисунке 4.

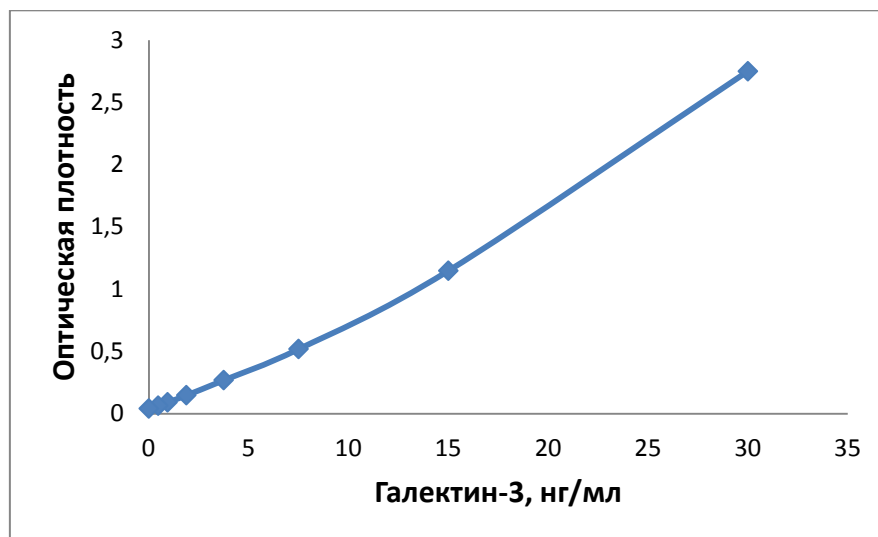


Рисунок 4 – Пример калибровочной кривой определения концентрации галектина-3 иммуноферментным методом

Диапазон определяемых концентраций галектина-3 – от 0,94 до 60 нг/мл.

2.5 Гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов миокарда трансплантированного сердца

Полученные фрагменты миокарда выдерживали в течении часа в 10% растворе нейтрального забуференного формалина, а затем осуществляли проводку в парафин по стандартной методике. Для изготовления срезов из парафиновых блоков использовался ротационный микротом. Срезы толщиной 3 мкм помещали на предметное стекло, подвергали депарафинации и регидратации по общепринятой методике с применением ксилола и батареи спиртов нисходящей концентрации. Препарат окрашивали гематоксилином и эозином, а также трихромом по Массону. После окрашивания срезы заключали под покровное стекло с помощью среды для заключения (канадский бальзам). Микроскопию и фотографирование полученных гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа (Leica, производство Германия).

Верификацию острого клеточного отторжения производили на основании гистологического исследования ЭМБ. Степень клеточного отторжения трансплантата оценивалась согласно рекомендованной классификации ISHLT-2004 и используемой ранее ISHLT-1990.

Иммуногистохимическое исследование ЭМБ осуществляли с оценкой фиксации основных классов иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и C4d-фрагмента комплемента в стенках сосудов миокарда, методами прямой и непрямой иммунофлюоресценции на криостатных срезах. Степень гуморального отторжения трансплантата оценивалась согласно рекомендованной классификации ISHLT-2005.

При гистологическом исследовании ЭМБ с помощью качественного метода визуализации проводилась оценка наличия, выраженности и характера фиброза: диффузный фиброз развивается в интерстициальном или периваскулярном пространстве и не сопровождается существенной потерей функционирующих клеток; при очаговом фиброзе происходит замещение погибших кардиомиоцитов с формированием соединительной ткани; диффузно-очаговый фиброз – смешанная, наиболее тяжелая форма.

2.6 Оценка клинической эффективности биомаркеров у реципиентов сердца

Оценивали клиническую эффективность лабораторных тестов, определяя чувствительность и специфичность, а также вычисляли площадь под кривыми ROC (Receiver operating characteristic curve) и определенные пороговые значения. Для оценки диагностической значимости галектина-3 использовали показатель относительного риска.

Чувствительность – доля пациентов, действительно имеющих заболевание, среди тех, у кого тест был положительным. Чувствительность теста рассчитывалась как отношение количества больных с истинноположительными (а) результатами к суммарному количеству больных с истинноположительными и ложноотрицательными (b) результатами теста:

$$\text{Чувствительность} = a/(a+b).$$

Истинноположительные случаи – пробы, в которых и концентрация галектина-3 была выше рассчитанного порогового значения, и у пациентов был выявлен фиброз миокарда трансплантата по результатам ЭМБ.

Ложноотрицательные случаи – пробы, в которых концентрация галектина-3 была ниже рассчитанного порогового значения, но у пациентов были выявлены гистологические признаки фиброза миокарда трансплантата по результатам ЭМБ.

Специфичность – доля пациентов, не имеющих заболевания среди тех, у кого тест оказался отрицательным. Специфичность теста рассчитывается как отношение количества больных с истинноотрицательными (с) результатами к суммарному количеству больных с истинноотрицательными и ложноположительными (d) результатами теста:

$$\text{Специфичность} = c/(c+d).$$

Истинноотрицательные случаи – пробы, в которых и концентрация галектина-3 была ниже рассчитанного порогового значения, и у пациентов не было выявлено гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата по результатам ЭМБ.

Ложноположительные случаи – пробы, в которых концентрация галектина-3 была выше рассчитанного порогового значения, но у пациентов не был верифицирован фиброз миокарда трансплантата по результатам ЭМБ.

При оценке диагностических характеристик галектина-3 применялся анализ кривой ROC, предусматривающий сравнение операционных характеристик теста – чувствительности и специфичности. Для оценки качества модели оценивали значение площади под кривой ROC AUC (Area under ROC). В качестве нулевой гипотезы принималось, что площадь под кривой ROC не отличается от величины 0,5 (Файнзильберг Л.С., 2009; Peat J., 2015).

Пороговые уровни галектина-3 определялись при построении графиков зависимостей чувствительности и специфичности от концентрации галектина-3 в крови, искомую концентрацию устанавливали в точке пересечения построения кривых.

Относительный риск в отношении выявления фиброза миокарда трансплантированного сердца высчитывали для повышенных (или пониженных) относительно рассчитанных пороговых значений уровней галектина-3. В настоящей работе относительный риск определяли как отношение частоты наличия гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата у пациентов со значениями концентраций галектина-3 рассчитанных пороговых значений, к частоте наличия фиброза миокарда трансплантата у пациентов со значениями галектина-3 ниже пороговых значений.

При интерпретации результатов статистически достоверными считали границы доверительного интервала, не включающего единицу. Если доверительный интервал включал единицу, то различия между группами по изучаемому бинарному признаку были статистически незначимы.

2.7 Статистическая обработка результатов исследования

После окончания сбора материала все данные были объединены в электронную таблицу. Анализ полученных данных производили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ для научно-технических расчетов IBM SPSS STATISTICS 20 (IBM SPSS Inc., США). Для проверки нормальности распределения использовался критерий Шапиро-Уилка (Румянцев О.П., 2009; Юнкеров В.И., 2011). Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$), верхние и нижние границы 95%-ого доверительного интервала (95% ДИ) для параметрических и как медиана и интерквартильный размах для непараметрических переменных. Статистическую обработку полученных данных проводили методами непараметрической статистики: при сравнении зависимых выборок рассчитывали парный критерий

Вилкоксона, для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна-Уитни или Краскал-Уоллиса. Для оценки связи количественных и качественных порядковых признаков рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т.е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$ (Григорьев С. Г., 2016).

ГЛАВА 3 АНАЛИЗ УРОВНЯ ГАЛЕКТИНА-3 В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЗАСТОЙНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ И РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА В РАННИЕ И ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Одним из новых биомаркеров, предположительно являющимся индикатором фиброза миокарда у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, является галектина-3. Однако, данных об участии галектина-3 в развитии посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца крайне мало.

В настоящей главе выполнены следующие этапы исследования:

- анализ содержания галектина-3 в плазме крови пациентов с застойной сердечной недостаточностью и реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации, в сравнении с содержанием галектина-3 у здоровых лиц;
- сравнительный анализ уровня галектина-3 с уровнями других биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений: плацентарный фактор роста (PIGF), факторов роста эндотелия сосудов (VEGF-D, VEGF-A), хемоаттрактантный белок макрофагов (MCP-1), фактор роста тромбоцитов (PDGF-BB), растворимая форма лиганда CD40 (sCD40L), стимулирующий фактор роста (ST2);
- сравнительный анализ концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов, перенесших кризы острого отторжения сердечного трансплантата, верифицированные по результатам ЭМБ, и без таковых.

3.1 Сравнительный анализ содержания галектина-3 у здоровых лиц и у пациентов с застойной сердечной недостаточностью, ожидающих трансплантацию сердца

Согласно данным литературы, а также в соответствии с инструкцией к специфическим наборам реагентов для иммуноферментного анализа, измерение концентрации галектина-3 возможно как в сыворотке, так и в плазме крови пациентов. С целью предварительного определения оптимальных методических условий исследования галектина-3 у реципиентов сердца, провели сравнительный анализ концентрации этого биомаркера в сыворотке и плазме крови пациентов.

В ходе исследования, нами не выявлено достоверных различий в одномоментном измерении концентрации галектина-3 у 15 пациентов с терминальной стадией СН, в зависимости от типа материала: в сыворотке крови медиана составила 16,05, интерквартильный размах – [9,86; 22,39] нг/мл, в плазме – 16,85 [10,99; 24,59] нг/мл, $p=0,73$. Тем не менее, для исключения влияния фактора различий биоматериала, далее в работе анализ концентраций галектина-3 проводили в однородном материале – плазме венозной крови пациентов.

Исследование уровня галектина-3 проводили в 80 образцах плазмы крови, взятой у пациентов с сердечной недостаточностью III и IV функционального класса по классификации NYHA, находящихся в листе ожидания трансплантации сердца (основная группа) и 10 образцах плазмы крови здоровых лиц (не отличающиеся по полу и возрасту от основной группы). Среди пациентов с терминальной СН было 68 (85%) мужчин (50 ± 12 лет) и 12 (25%) женщин (37 ± 9 лет). Среди обследованных пациентов причиной развития тяжелой сердечной недостаточности, послужившей показанием к трансплантации сердца, у 44-х была дилатационная кардиомиопатия, у 36 – ишемическая болезнь сердца.

Медиана уровня галектина-3 в плазме крови здоровых лиц составила 11,08 [7,71; 14,47] нг/мл. Медиана уровня галектина-3 в плазме крови пациентов с терминальной стадией СН составила 15,92 [11,80; 23,65] нг/мл. Сравнительный анализ уровня галектина-3 у здоровых лиц и пациентов с терминальной стадией СН представлен на рисунке 5. Данные здесь и далее представлены в виде медианы концентраций [интерквартильного размаха] с указанием достоверности различий.

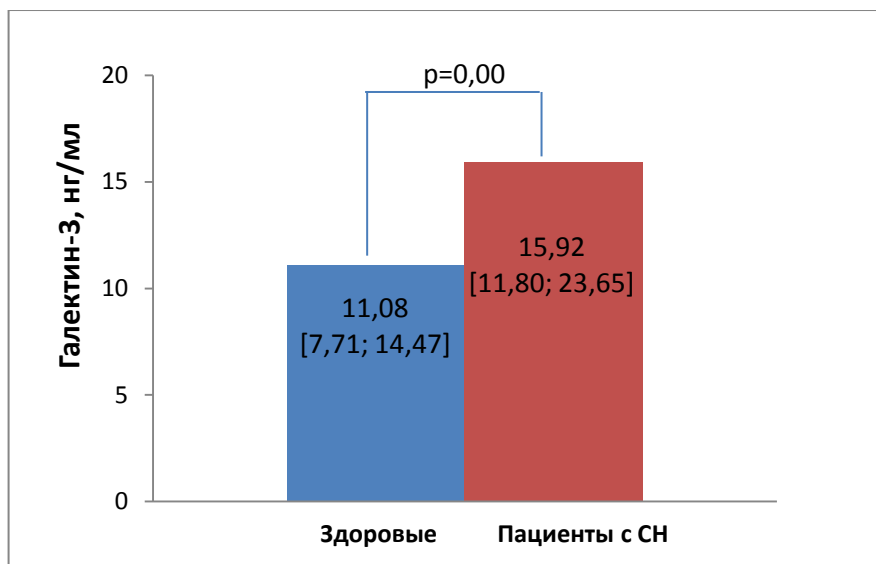


Рисунок 5 – Сравнительный анализ концентрации галектина-3 в плазме крови здоровых лиц и пациентов, страдающих терминальной сердечной недостаточностью

У здоровых лиц медиана концентраций галектина-3 оказалась достоверно ниже, чем у пациентов, страдающих сердечной недостаточностью в терминальной стадии ($p=0,00$).

Уровень галектина-3 у мужчин составил 15,76 [11,80; 23,65] нг/мл, у женщин – 18,46 [12,46; 21,56] нг/мл. Сравнительный анализ уровней галектина-3 у мужчин и женщин, страдающих терминальной СН, представлен на рисунке 6.

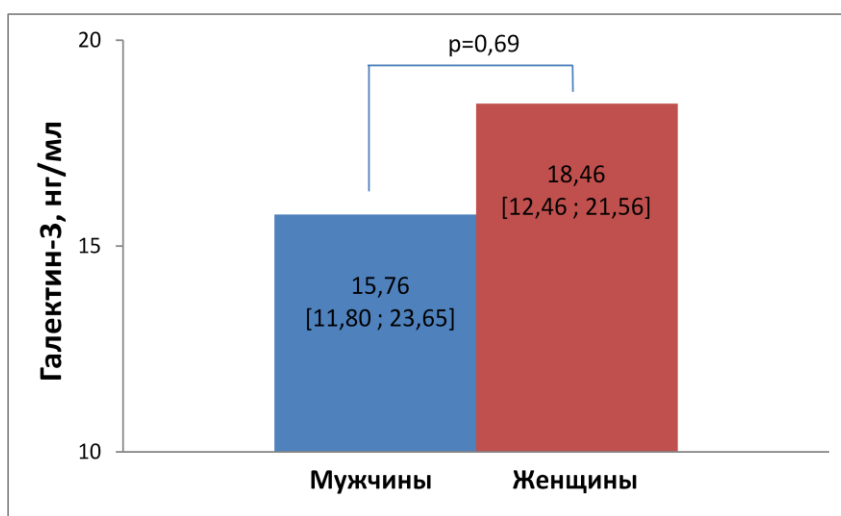


Рисунок 6 – Сравнительный анализ концентрации галектина-3 в плазме крови мужчин и женщин, страдающих терминальной сердечной недостаточностью

Анализ показал, что концентрации галектина-3 в плазме крови не различались у мужчин и женщин ($p=0,69$), хотя имела место тенденция к более высокому содержанию галектина-3 у женщин, чем у мужчин.

На рисунке 7 представлена корреляционная связь уровня галектина-3 в крови с возрастом пациентов.

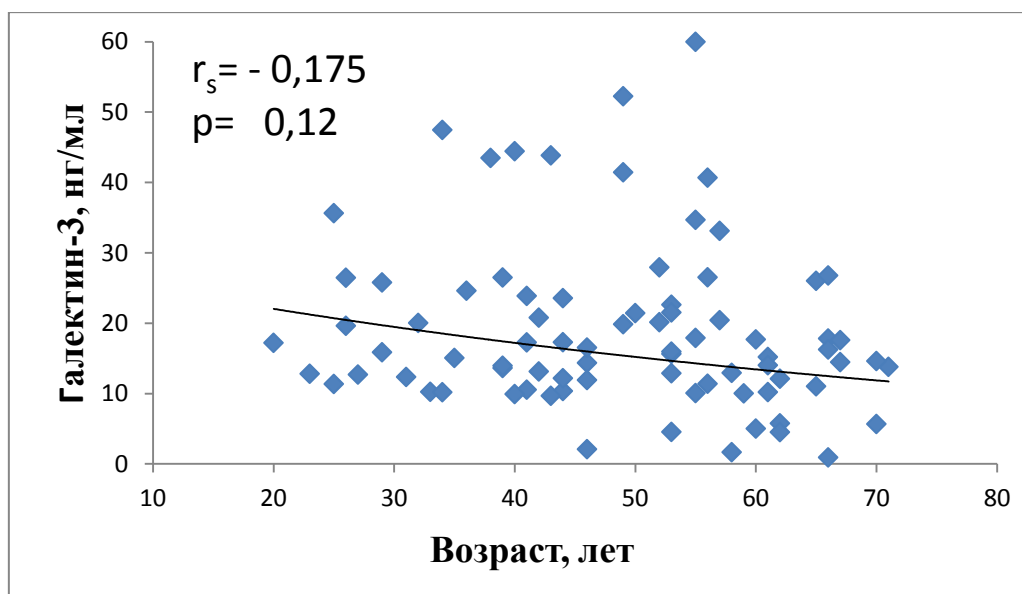
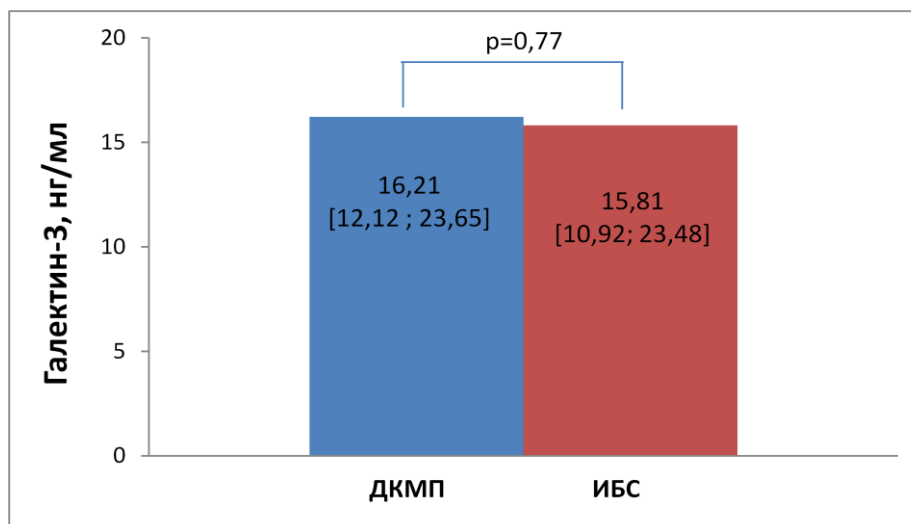


Рисунок 7 – Корреляция уровня галектина-3 с возрастом пациентов

Не выявлено связи уровня галектина-3 с возрастом пациентов ($p=0,12$).

Сравнительный анализ уровней галектина-3 у пациентов, страдавших дилатационной кардиомиопатией и ишемической болезнью сердца до трансплантации, представлен на рисунке 8.



ДКМП – дилатационная кардиомиопатия

ИБС – ишемическая болезнь сердца

Рисунок 8 – Сравнительный анализ концентрации галектина-3 у пациентов с исходным диагнозом: дилатационная кардиомиопатия и ишемическая болезнь сердца

Не выявлено достоверных различий медианы концентраций галектина-3 у пациентов с ДКМП (16,21 [12,12; 23,65] нг/мл) и ИБС (15,81 [10,92; 23,48] нг/мл), $p=0,77$.

Таким образом, анализ уровня галектина-3 проводили в однородном материале – в настоящем исследовании во всех случаях использовалась плазма венозной крови. Содержание галектина-3 в плазме крови пациентов, страдающих терминальной стадией сердечной недостаточности, варьирует в широких пределах. Медиана концентрации галектина-3 у пациентов с терминальной сердечной недостаточностью достоверно выше, чем у здоровых лиц. Уровень галектина-3 у мужчин не отличался от такового у женщин, а также не зависил от возраста пациента; не выявлено различий в концентрации галектина-3 у пациентов с ДКМП и ИБС.

3.2 Исследование уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца

Исследование уровня галектина-3 в плазме крови проводили у 124-х реципиентов в различные сроки после трансплантации сердца. Периоды наблюдения обозначены нами следующим образом:

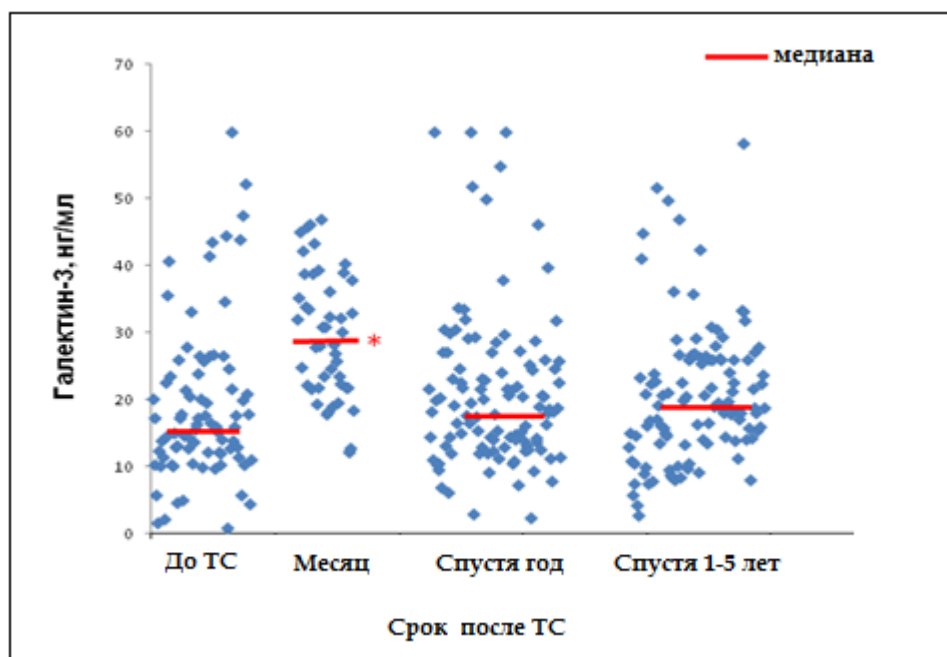
- ранний посттрансплантационный период – спустя «месяц» (30 ± 14 дней);
- отдаленные сроки после трансплантации сердца:
 - спустя «год» (334 ± 69 дней);
 - спустя «1-5 лет» (963 ± 273 дней).

Результаты анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца

Срок после ТС (n – число реципиентов)	Концентрация, нг/мл	
	Медиана	Интерквартильный размах
Спустя месяц (n=46)	29,21	21,97 ; 37,44
Спустя год (n=107)	18,71	13,14 ; 25,41
Спустя 1-5 лет (n=110)	19,12	14,09 ; 26,03

Распределение концентраций галектина-3 с указанием индивидуальных значений у пациентов до трансплантации сердца и реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации представлено на рисунке 9.



* $p < 0,05$, в сравнении с уровнем галектина-3 до ТС

Рисунок 9 – Уровень галектина-3 у пациентов до трансплантации сердца и реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

В первый месяц после трансплантации сердца уровень галектина-3 в плазме крови реципиентов составил 29,21 [21,97; 37,44] нг/мл и оказался достоверно выше, чем у пациентов до трансплантации 15,92 [11,80; 23,65] нг/мл, $p < 0,05$. Более высокий уровень галектина-3 в первый месяц после ТС может быть обусловлен действием комплекса различных факторов, связанных с оперативным вмешательством, факторами раннего послеоперационного периода, в т.ч. системным воспалительным ответом на оперативное вмешательство; адаптацией организма реципиента к трансплантированному органу и иммуносупрессивной терапии и др.

Спустя год после ТС у пациентов уровень галектина-3 снизился до уровня, определяемого до трансплантации, и составил 18,71 [13,14; 25,41] нг/мл ($p = 0,25$).

При исследовании содержания галектина-3 у реципиентов сердца в более поздний период – спустя 1-5 лет после трансплантации, уровень биомаркера составил 19,12 [14,09; 26,03] нг/мл и не различался с уровнем галектина-3 спустя год после ТС.

Таким образом, в первый месяц после трансплантации уровень галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца достоверно выше, что может быть обусловлено влиянием комплекса факторов раннего посттрансплантационного периода. Однако, в отдаленные сроки (как спустя год, так и позднее – спустя 1-5 лет) после трансплантации концентрация галектина-3 снижается до уровня, определяемого до трансплантации.

3.3 Анализ связи уровня галектина-3 с концентрацией биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца

Проведен анализ связи концентрации галектина-3 в плазме крови 54-х реципиентов сердца спустя год после трансплантации с уровнями следующих биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений:

- факторы роста эндотелия сосудов (VEGF-D и VEGF-A), продуцирующиеся макрофагами, фибробластами, эндотелиальными и другими клетками; участвуют

в активации, пролиферации, миграции и дифференцировке клеток эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов;

- плацентарный фактор роста (PlGF), участвующий в регуляции роста эндотелия сосудов и инициирующий воспалительный процесс в сосудистой стенке;

- фактор роста тромбоцитов (PDGF-BB), изомеры которого активизируют пролиферацию фибробластов и гладкомышечных клеток, моноцитов, нейтрофилов, стимулируют миграцию клеток, участвуют в процессах репарации и заживления ран;

- хемоаттрактантный белок макрофагов (MCP-1), который продуцируется эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, фибробластами, лимфоцитами и другими клетками; MCP-1 активирует миграцию лейкоцитов в сосудистую стенку, участвует в активации и дегрануляции лейкоцитов, миелопоэзе, ангиогенезе и фиброгенезе;

- растворимая форма лиганда CD40 (sCD40L) экспрессируется на поверхности тромбоцитов; участвует в процессах воспаления, тромбообразования, вызывает активацию и пролиферацию гладкомышечных клеток;

- стимулирующий фактор роста (ST2), растворимая форма которого представляет циркулирующую форму рецептора к интерлейкину-33. Секреция интерлейкин-33, главным образом, происходит в ответ на механическое растяжение фибробластов и кардиомиоцитов, приводя к активации сигнальных путей и препятствуя развитию гипертрофии миокарда.

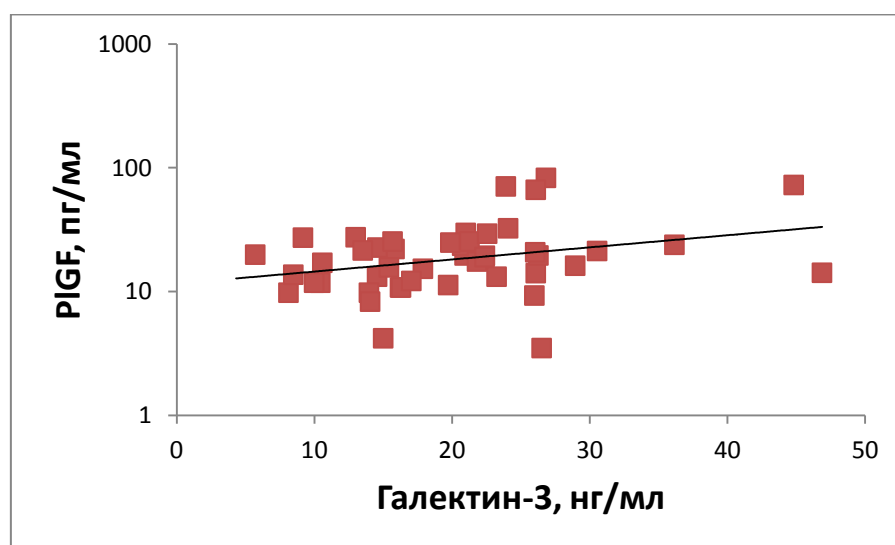
Данные о корреляционной связи уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца с содержанием других биомаркеров представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Корреляционная связь уровня галектина-3 в плазме крови с содержанием биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений

Маркер	Коэффициент корреляции, r_s	Достоверность, p
VEGF-A	- 0,004	0,98
VEGF-D	- 0,511	0,00
PIGF	0,293	0,04
PDGF-BB	- 0,208	0,15
MCP-1	- 0,285	0,05
sCD40L	- 0,162	0,27
ST2	0,032	0,70

Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца спустя год после трансплантации положительно коррелирует с концентрацией PIGF, отрицательно – с VEGF-D и MCP-1. Концентрация галектина-3 не коррелирует с концентрацией следующих биомаркеров: VEGF-A, PDGF-BB, sCD40L и ST2.

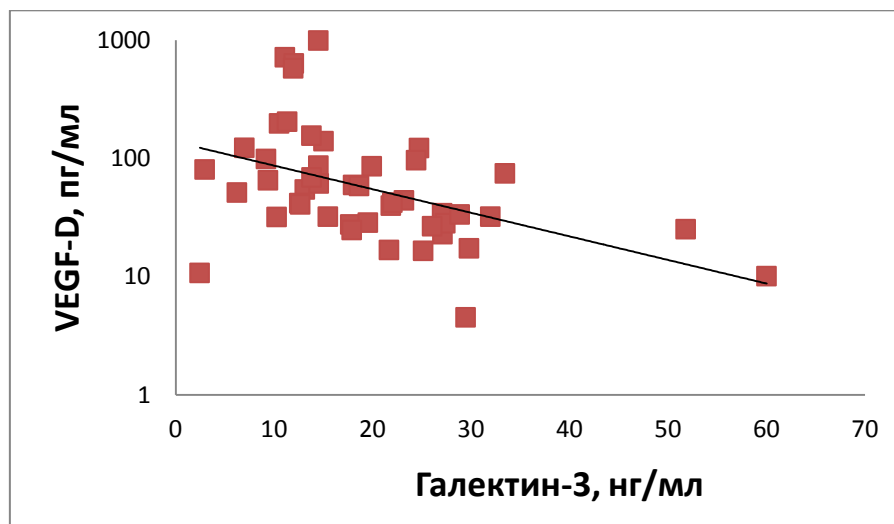
На рисунке 10 показана положительная корреляционная связь между концентрацией галектина-3 и PIGF в плазме крови реципиентов спустя год после трансплантации ($r_s = 0,293$, $p = 0,04$).



Ось ординат: шкала в виде десятичного логарифма

Рисунок 10 – Корреляция между концентрацией галектина-3 и PIGF

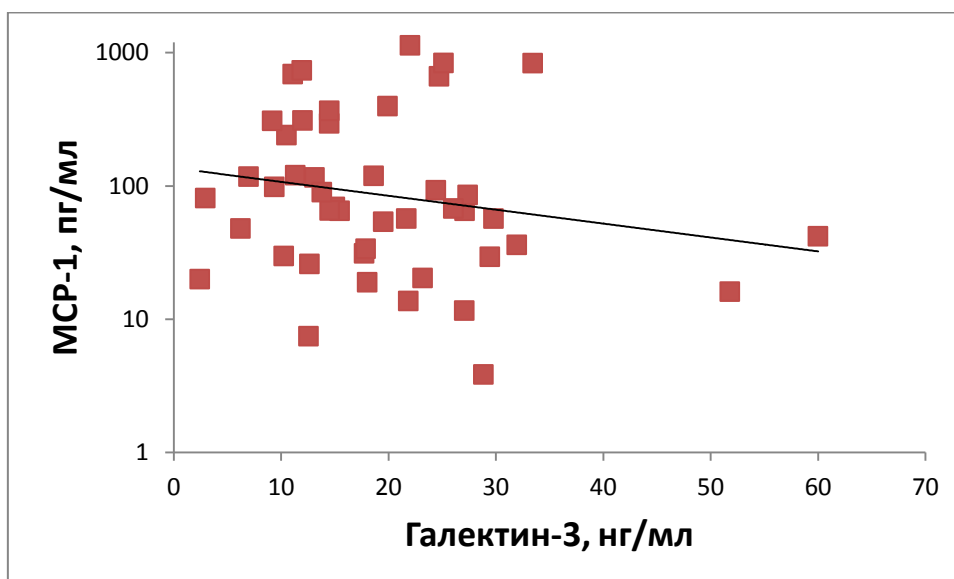
На рисунке 11 показана отрицательная корреляционная связь между концентрацией галектина-3 и VEGF-D в плазме крови реципиентов спустя год после трансплантации ($r_s = -0,511$, $p = 0,00$).



Ось ординат: шкала в виде десятичного логарифма

Рисунок 11 – Корреляция между концентрацией галектина-3 и VEGF-D

На рисунке 12 показана отрицательная корреляционная связь между концентрацией галектина-3 и МСР-1 в плазме крови реципиентов спустя год после трансплантации ($r_s = -0,285$, $p = 0,05$).



Ось аординат: шкала в виде десятичного логарифма

Рисунок 12 – Корреляция между концентрацией галектина-3 и МСР-1

Таким образом, концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов спустя год после ТС коррелировала с уровнями следующих биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений: положительно с уровнем PlGF, отрицательно – с VEGF-D и MCP-1.

3.4 Анализ концентрации галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения сердечного трансплантата

В ранние сроки после трансплантации сердца, согласно результатам ЭМБ, 28 из 46 включенных в данный анализ пациентов перенесли эпизоды острого отторжения сердечного трансплантата: 27 реципиентов перенесли острое клеточное (от 1А до 3А) и один реципиент – гуморальное. В течение первого месяца после ТС по данным ЭМБ у 18 пациентов не было выявлено гистологических и иммуногистохимических признаков отторжения сердечного трансплантата.

На рисунке 13 представлены результаты распределения концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов в первый месяц после трансплантации в зависимости от числа перенесенных кризов острого отторжения: 22 пациента перенесли 1-2 эпизодов острого клеточного, 6 пациентов перенесли 3 и более эпизодов острого отторжения (острое клеточное, n=5 и гуморальное, n=1) и 18 пациентов, у которых не было верифицировано кризов (обозначено «0»).

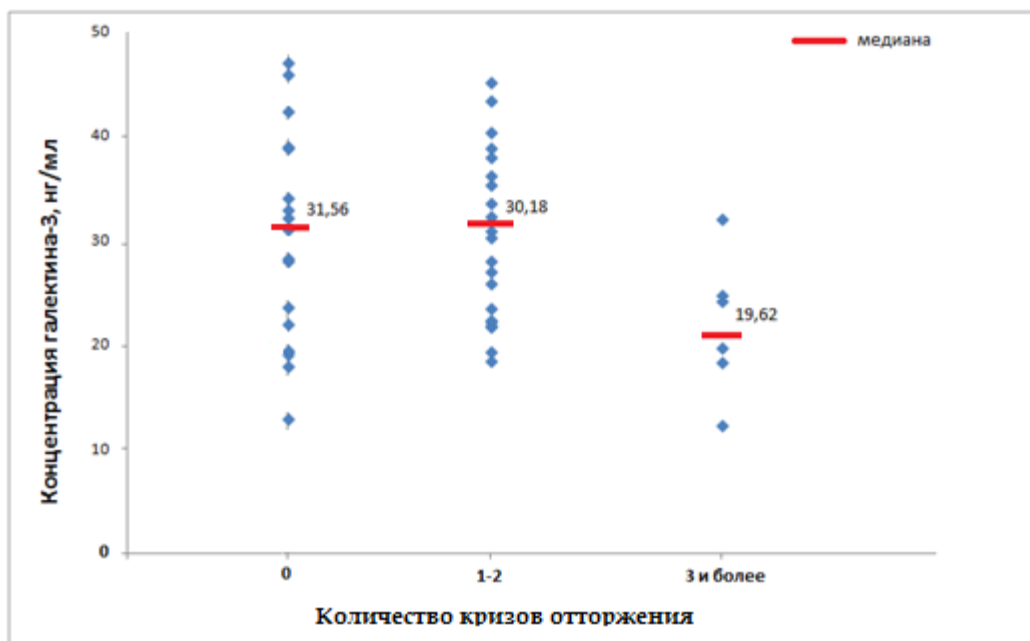
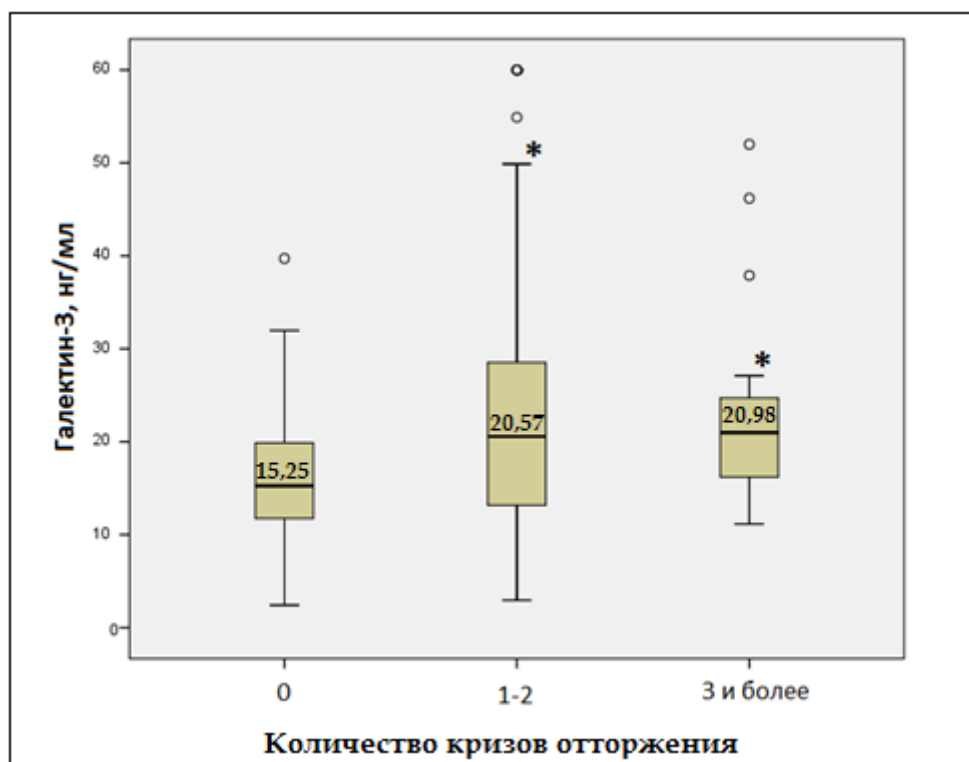


Рисунок 13 – Распределение концентраций галектина-3 в первый месяц после трансплантации сердца у реципиентов в зависимости от числа перенесенных кризов острого отторжения

В первый месяц после трансплантации сердца не выявлено достоверных различий медианы концентраций галектина-3 у пациентов, перенесших острое клеточное (n=27) и гуморальное (n=1) отторжение, и не перенесших эпизодов отторжения (n=18) в течении раннего посттрансплантационного периода.

Спустя год после трансплантации сердца у 75 из 107 включенных в исследование пациентов были верифицированы кризы острого отторжения трансплантата: 57 пациентов перенесли 1-2 криза (острое клеточное, n=54 и гуморальное, n=3) и 18 пациентов перенесли 3 и более кризов отторжения (острое клеточное, n=14 и гуморальное, n=4).

На рисунке 14 представлен сравнительный анализ концентрации галектина-3 спустя год после трансплантации сердца у реципиентов в зависимости от числа перенесенных кризов острого отторжения трансплантата и без таковых.



* $p < 0,05$, в сравнении с реципиентами, не перенесшими кризы отторжения

Рисунок 14 – Сравнительный анализ концентраций галектина-3 спустя год после трансплантации сердца у реципиентов в зависимости от числа перенесенных кризов острого отторжения трансплантата

Уровень галектина-3 у реципиентов сердца, перенесших 1-2 криза острого отторжения спустя год после трансплантации, составил 20,57 [13,17; 28,53] нг/мл, 3 и более кризов – 20,98 [17,02; 24,53] нг/мл. У реципиентов при отсутствии верифицированных кризов острого отторжения трансплантированного сердца уровень галектина-3 спустя год после ТС составил 15,25 [12,06; 19,47] нг/мл.

На рисунке 15 показана корреляционная связь между концентрацией галектина-3 и количеством перенесенных кризов острого отторжения спустя год после трансплантации сердца ($r_s=0,208$, $p=0,03$).

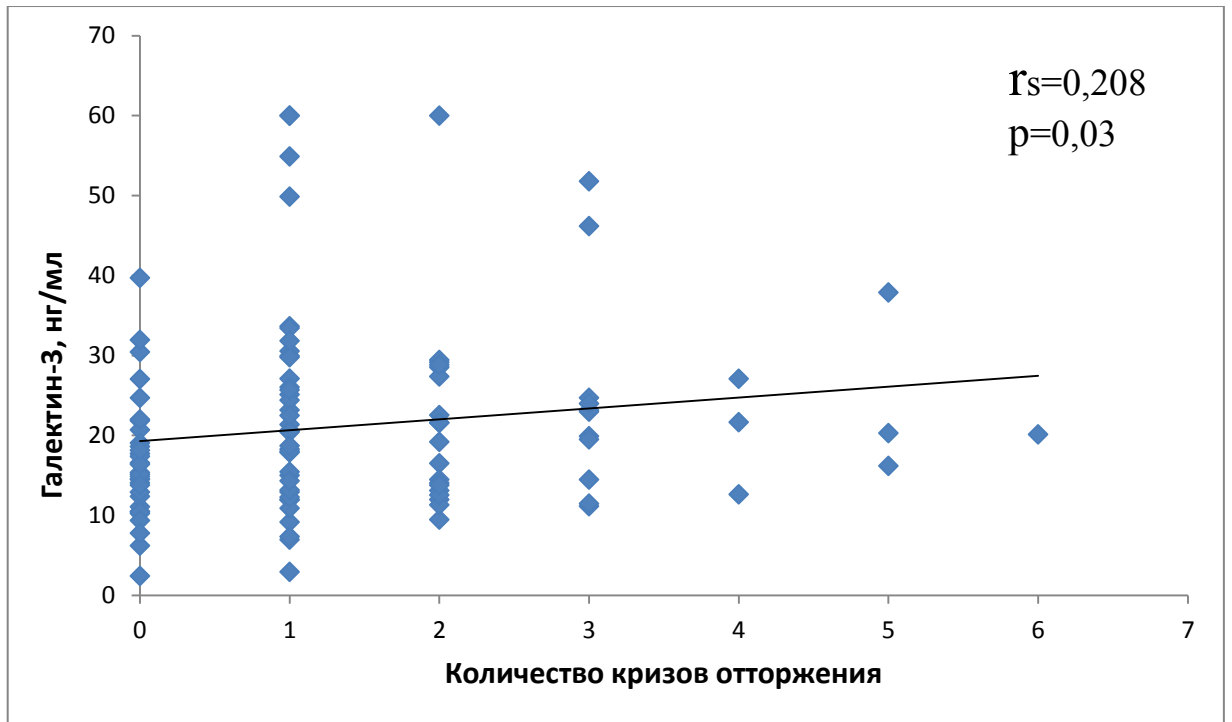


Рисунок 15 – Корреляция между концентрацией галектина-3 и количеством кризов острого отторжения спустя год после трансплантации сердца

Имеет место прямая зависимость между числом перенесенных кризов отторжения и уровнем галектина-3.

Сравнительный анализ концентрации галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов сердца, перенесших кризы острого отторжения трансплантата и без таковых, представлен на рисунке 16.

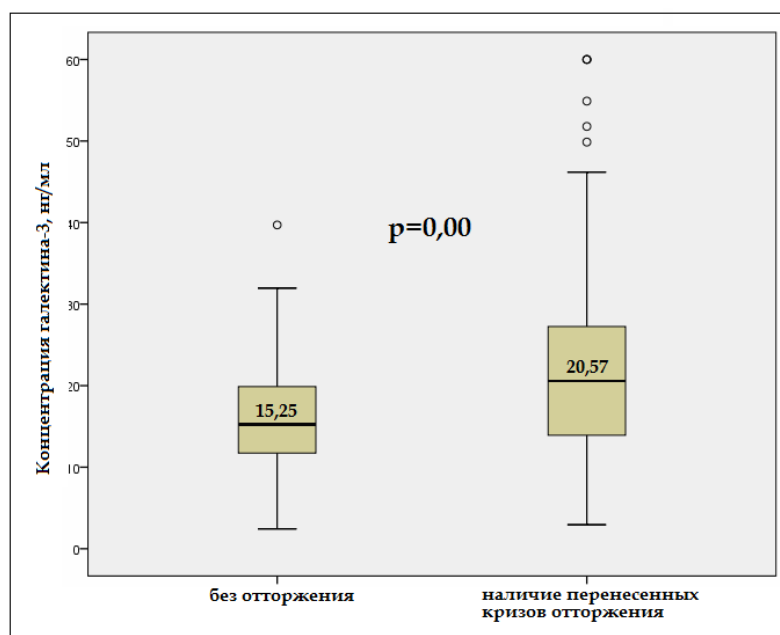
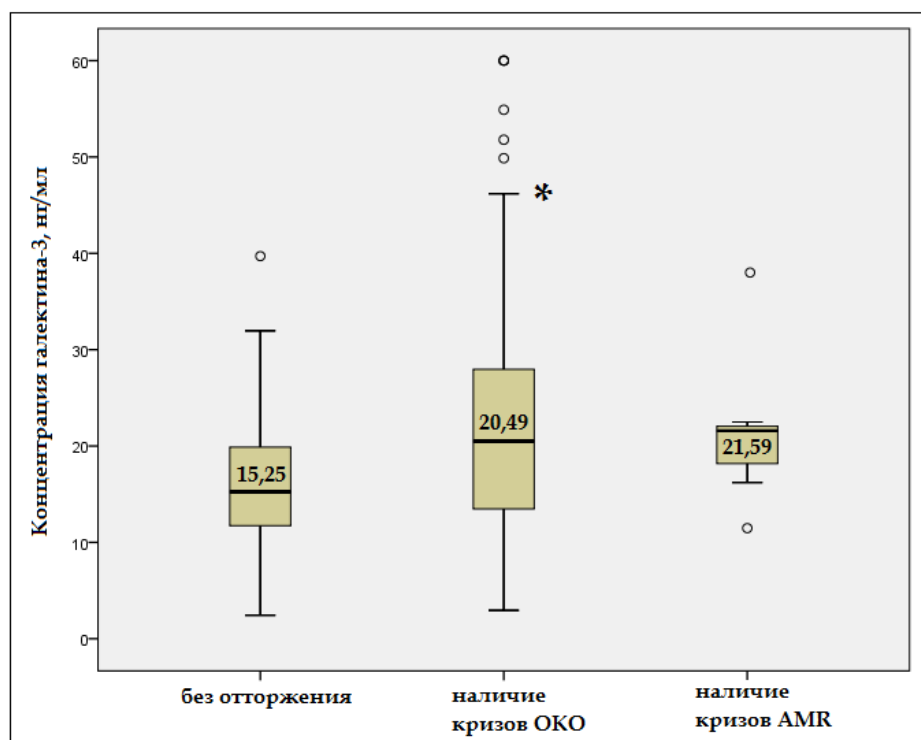


Рисунок 16 – Сравнительный анализ концентрации галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов сердца, перенесших кризы острого отторжения трансплантата и без таковых

Уровень галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов сердца, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, составил 20,57 [13,92; 27,24] нг/мл и был достоверно выше, чем у реципиентов без таковых ($p=0,00$).

Сравнительный анализ концентрации галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов сердца, перенесших кризы острого клеточного и гуморального отторжения и без таковых, представлен на рисунке 17.



* $p = 0,00$, в сравнении с реципиентами, не перенесшими кризы отторжения

Рисунок 17 – Сравнительный анализ концентрации галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов сердца, перенесших кризы острого клеточного (ОКО) и гуморального отторжения (AMR) и без таковых

Концентрация галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы ОКО составила 20,49 [13,36; 27,66] нг/мл, а у реципиентов, перенесших кризы AMR – 21,59 [18,16; 22,05] нг/мл. Анализ показал, что концентрация галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы ОКО, достоверно выше, чем у реципиентов без таковых ($p=0,00$). Концентрация галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы AMR, была выше, чем у реципиентов, перенесших кризы ОКО, хотя и не достигала статистической значимости в отношении реципиентов без кризов ($p=0,18$). Предположительно, это связано с небольшим количеством включенных в исследование реципиентов, перенесших кризы AMR.

Распределение концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов сердца в зависимости от количества перенесенных кризов острого отторжения представлено на рисунке 18.

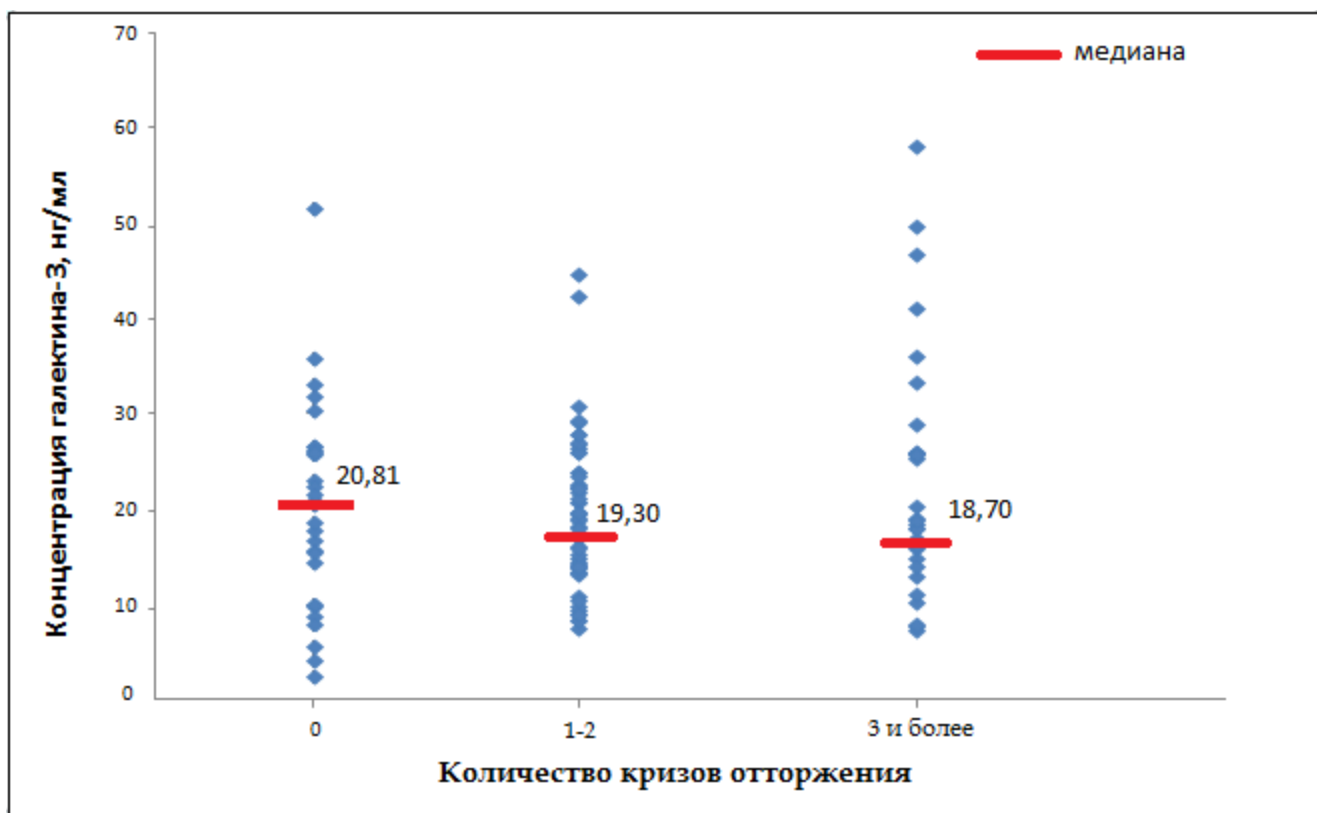


Рисунок 18 – Распределение концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов сердца в зависимости от числа перенесенных кризов острого отторжения

Не было выявлено достоверных различий в медианах концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения ($n=82$) и без таковых ($n=28$), $p>0,05$.

Согласно данным, полученным в настоящей главе, концентрация галектина-3 достоверно выше у пациентов, страдающих терминальной сердечной недостаточностью, чем у здоровых лиц ($p=0,00$). В раннем посттрансплантационном периоде уровень галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца достоверно выше, но в отдаленные сроки (как спустя год, так и спустя 1-5 лет) после трансплантации не отличается от такового, определяемого до трансплантации.

Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов спустя год после ТС коррелировала с уровнями других биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений. Выявлена положительная корреляция концентрации галектина-3 с уровнем

PlGF ($r_s = 0,293$, $p = 0,04$) и отрицательная корреляция – с VEGF-D ($r_s = - 0,511$, $p = 0,00$) и MCP-1 ($r_s = - 0,285$, $p = 0,05$).

В ранний посттрансплантационный период медианы концентраций галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, и без верифицированных кризов, не различались. Уровень галектина-3 в плазме крови спустя год после трансплантации сердца достоверно выше у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата ($p=0,00$), чем у реципиентов без таковых. Имеет место прямая зависимость между числом перенесенных кризов острого отторжения трансплантированного сердца и уровнем галектина-3 ($r=0,208$, $p=0,03$).

ГЛАВА 4 СВЯЗЬ УРОВНЯ ГАЛЕКТИНА-3 В ПЛАЗМЕ КРОВИ РЕЦИПИЕНТОВ С НАЛИЧИЕМ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ФИБРОЗА ТРАНСПЛАНТИРОВАННОГО СЕРДЦА

В предыдущем разделе настоящей работы представлены данные, указывающие на связь уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца с перенесенными кризами острого отторжения трансплантата. Концентрация галектина-3 выше у реципиентов, перенесших острое отторжение трансплантата, причем имеет место прямая зависимость между величиной уровня биомаркера и числом верифицированных эпизодов отторжения трансплантата. Выявленные различия в концентрации галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, и реципиентов с отсутствием верифицированных эпизодов острого отторжения имеют место в отдаленном, но не в раннем периоде после трансплантации. Величина уровня галектина-3 у реципиентов сердца предположительно может быть связана с наличием фибротических изменений миокарда трансплантированного сердца.

В настоящей главе выполнены следующие этапы исследования:

- выявление гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата, по данным эндомикардиальной биопсии, у реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации;
- сравнительный анализ частоты выявления гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших и не перенесших кризы острого отторжения трансплантированного сердца;
- сравнительный анализ уровня галектина-3 в плазме крови реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата и без такового.

4.1 Частота и характер гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата у реципиентов в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

Исследованы 583 эндомикардиальных биоптата от 124-х пациентов (от одного пациента: минимум – 3, максимум – 20; в среднем 5 ± 2 ЭМБ) в различные сроки после трансплантации сердца. При гистологическом исследовании ЭМБ с

помощью качественного метода визуализации проводилась оценка наличия и характера фиброза как проявления патологических изменений в миокарде трансплантата.

На рисунке 19 представлена доля реципиентов, в биоптатах которых в ранние и отдаленные сроки после трансплантации выявлены гистологические признаки фиброза миокарда трансплантата.

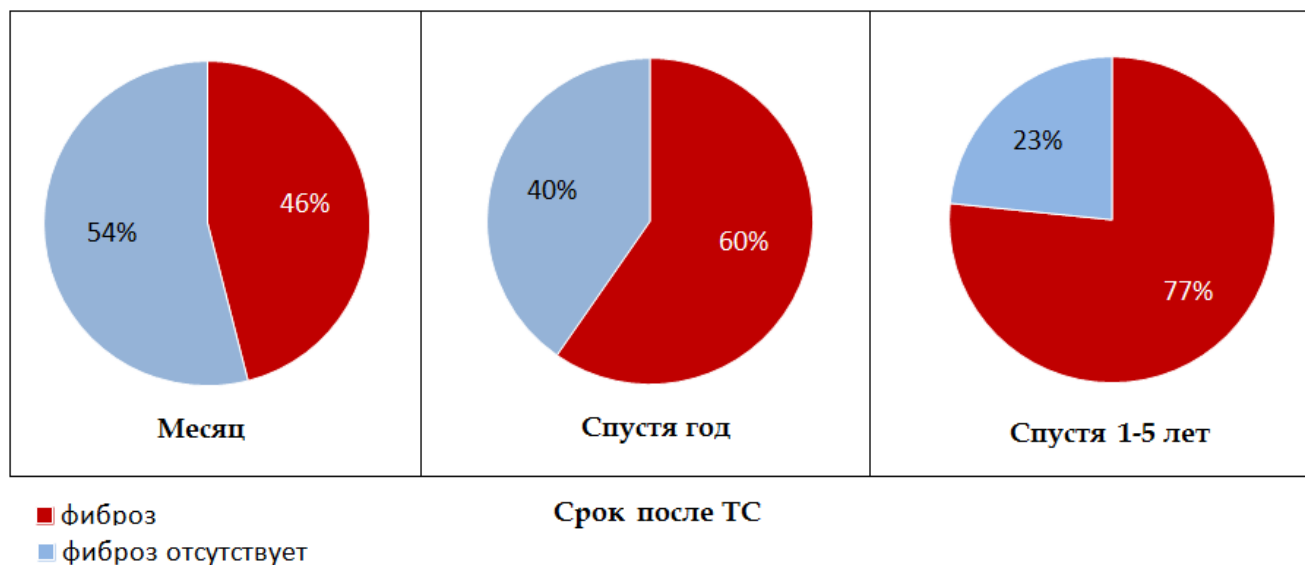


Рисунок 19 – Доля реципиентов (%), в биоптатах которых в ранние и отдаленные сроки после трансплантации выявлены гистологические признаки фиброза миокарда трансплантата

К концу первого месяца после трансплантации у 58 (46%) из 124-х включенных в исследование реципиентов сердца были выявлены патологические изменения в миокарде – фиброз трансплантата. У 66 (54%) реципиентов в первый месяц после трансплантации по данным ЭМБ не было обнаружено гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата. Спустя год после ТС по результатам ЭМБ у 74-х (60%) верифицирован фиброз миокарда и у 50 (40%) реципиентов фиброз отсутствовал. Спустя 1-5 лет после ТС уже у 95 (77%) реципиентов верифицирован фиброз миокарда трансплантата и только лишь у 29 (23%) фиброз отсутствовал. Анализ показал увеличение доли реципиентов, в

биоптатах которых выявлены гистологические признаки фиброза миокарда трансплантата, с течением времени после трансплантации сердца.

Во всех биоптатах, где на основании ЭМБ обнаружены фибротические изменения миокарда трансплантата, была проведена качественная оценка степени выраженности фиброза. На рисунке 20 представлены варианты видов фиброза миокарда трансплантата и его отсутствия, выявляемые при гистологическом исследовании.

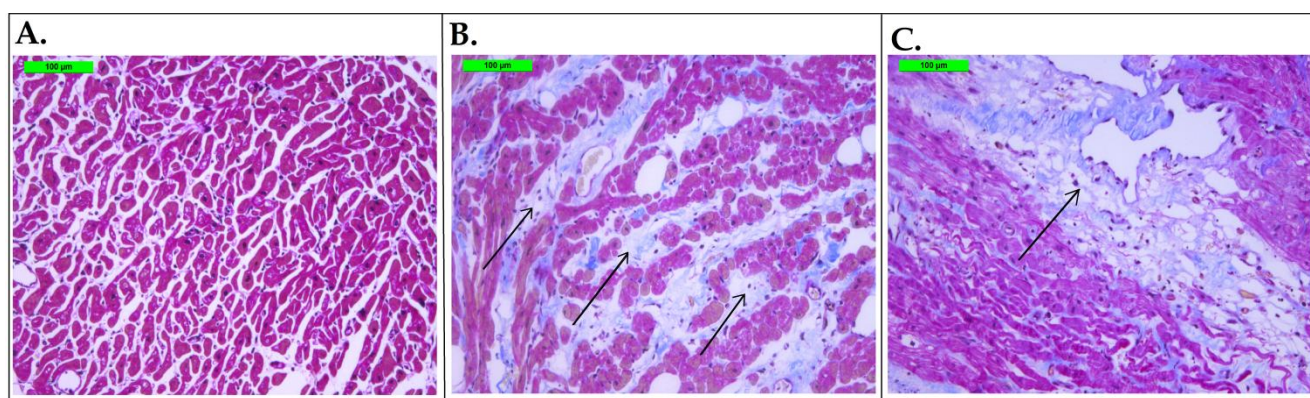


Рисунок 20 А-С – Варианты фибротических изменений, выявленных при гистологическом исследовании эндомикардиальных биоптатов. Окраска по Массону х 200

А. Очаговая белковая дистрофия кардиомиоцитов, очаговый умеренный отек интерстиция. Фиброз отсутствует

В. Диффузная умеренная белковая дистрофия кардиомиоцитов. Диффузный фиброз

С. Белковая дистрофия кардиомиоцитов. Очаговый фиброз

На рисунке 20А представлен пример гистологического препарата эндомикардиальной биопсии с отсутствием фибротических изменений в трансплантированном сердце. На рисунке 20В представлен пример эндомикардиального биоптата с диффузным фиброзом, который развивается в интерстициальном или периваскулярном пространстве и не сопровождается существенной потерей функционирующих клеток. На рисунке 20С представлен пример эндомикардиального биоптата с очаговым фиброзом, при котором происходит замещение погибших кардиомиоцитов с формированием соединительной ткани. В ходе нашего исследования в эндомикардиальных

биоптатах встречались признаки сочетанной формы – диффузно-очаговой, которая является наиболее тяжелой формой фиброза.

На рисунке 21 представлена встречаемость фиброза миокарда по виду у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после ТС.

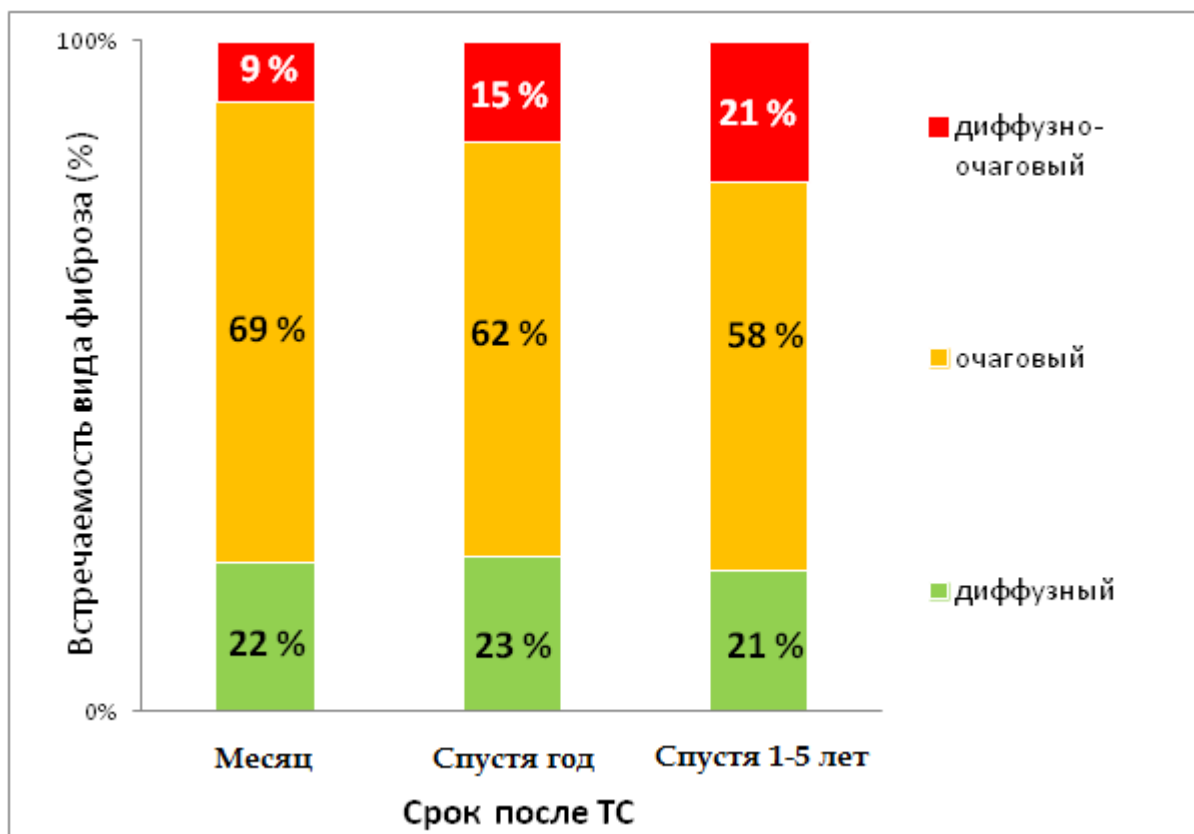


Рисунок 21 – Встречаемость фиброза по виду у реципиентов сердца в ранние и отдаленные сроки после трансплантации

К концу первого месяца после трансплантации из 58 реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата у 13 (22%) верифицирован диффузный фиброз, у 40 (69%) – очаговый и у 5 (9%) – диффузно-очаговый фиброз. Спустя год после трансплантации из 74-х реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата у 17 (23%) верифицирован диффузный фиброз, у 46 (62%) – очаговый и у 11 (15%) – диффузно-очаговый фиброз. Спустя 1-5 лет после ТС из 95 реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата у 20 (21%) верифицирован диффузный фиброз, у 55 (58%) – очаговый и у 20 (21%) – диффузно-очаговый фиброз. Анализ показал увеличение доли реципиентов сердца с наиболее тяжелой, диффузно-очаговой, формой фиброза с течением времени после трансплантации.

Таким образом, с течением времени после трансплантации увеличивается доля реципиентов сердца с фибротическими изменениями в миокарде трансплантата, с увеличением частоты встречаемости диффузно-очагового фиброза.

4.2 Сравнительный анализ частоты выявления гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших и не перенесших кризы острого отторжения трансплантата

В ранний посттрансплантационный период из 124-х пациентов, включенных в исследование, 75 (60%) реципиентов перенесли кризы острого отторжения трансплантированного сердца, верифицированные по результатам ЭМБ. Спустя год после трансплантации уже 89 (72%) реципиентов перенесли кризы отторжения, а спустя 1-5 лет – 92 (74 %) реципиента.

Процентное соотношение реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата и не перенесших в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца, представлено на рисунке 22.

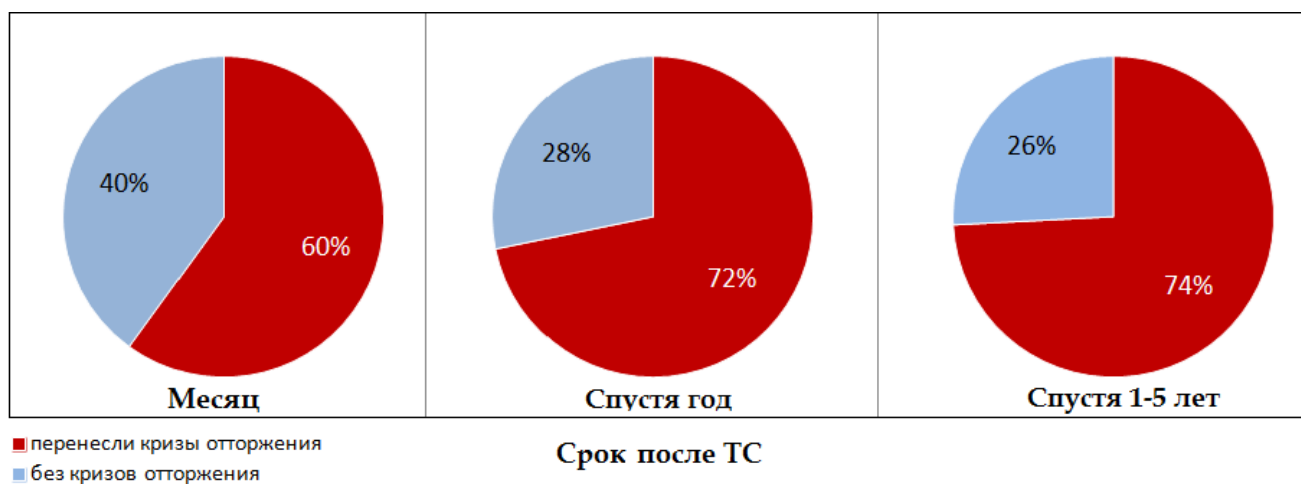


Рисунок 22 – Доля реципиентов (%), перенесших и не перенесших кризы острого отторжения трансплантата в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца

Анализ показал, что большая часть кризов отторжения возникли в раннем посттрансплантационном периоде, в отдаленном периоде количество перенесенных кризов острого отторжения с течением времени после

трансплантации снижается. Спустя год после трансплантации количество кризов отторжения увеличилось на 20% в сравнении с ранним посттрансплантационным периодом (месяц), спустя 1-5 лет – уже всего на 3% в сравнении с первым годом после ТС.

Был проведен анализ увеличения частоты встречаемости фиброза миокарда отдельно: у реципиентов, перенесших острое отторжение трансплантата, и в группе реципиентов, у которых не было верифицировано кризов острого отторжения трансплантата.

Доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата в ранние и отдаленные сроки после трансплантации, среди общего числа реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, представлена на рисунке 23.

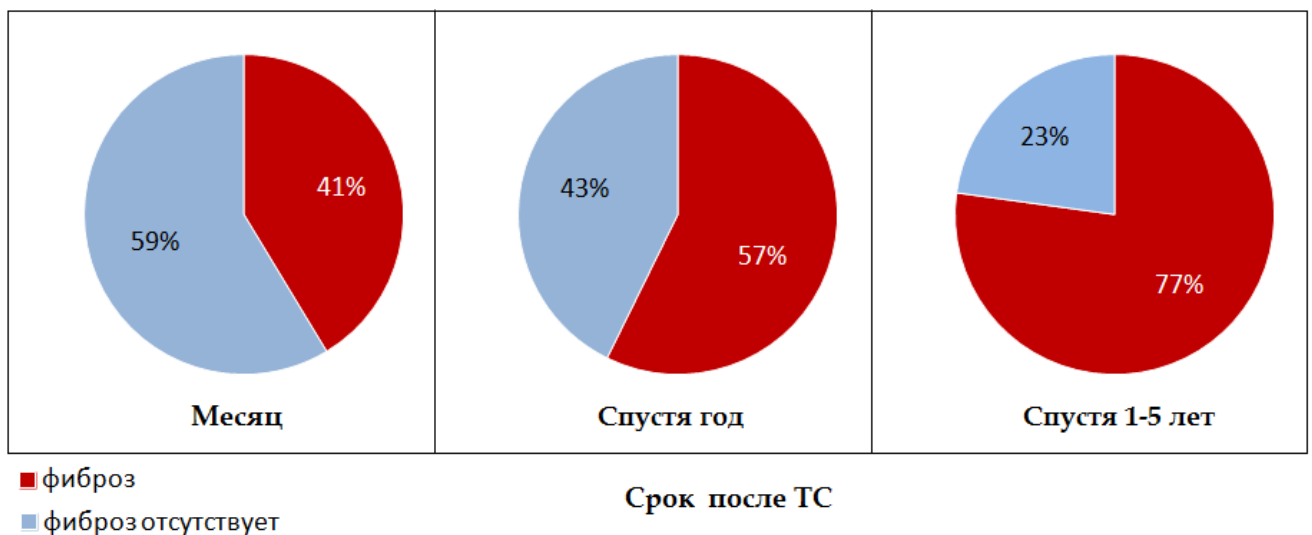


Рисунок 23 – Доля реципиентов (%) с фиброзом миокарда трансплантата в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения

Установлено, что с течением времени после трансплантации доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата, среди общего числа реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантированного сердца, увеличивается.

В ранние сроки после трансплантации фиброз миокарда трансплантата среди пациентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, обнаружен у 31 (41%) из 75 реципиентов. Спустя год после трансплантации

фиброз миокарда трансплантата среди реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, верифицирован у 51 (57%) из 89 реципиентов: таким образом, доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата возросла на 39% в сравнении с ранним посттрансплантационным периодом (месяц). Спустя 1-5 лет после трансплантации фиброз миокарда трансплантата среди реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, верифицирован у 71 (77%) из 92-х реципиентов – доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата возросла еще на 35% в сравнении с первым годом после ТС.

Суммарно выявление фиброза миокарда трансплантата спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, увеличилось за весь период на 88%, в сравнении с числом случаев фиброза, выявляемых спустя месяц.

Анализ увеличения частоты выявления случаев фиброза миокарда у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения трансплантата, представлен ниже.

Доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения трансплантата, представлена на рисунке 24.

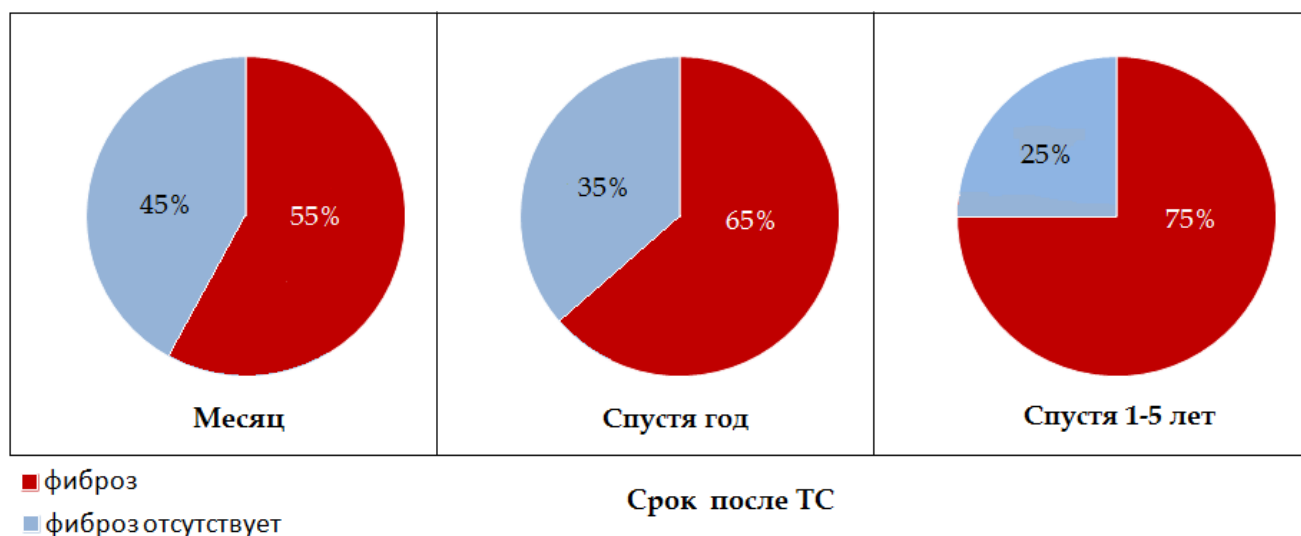


Рисунок 24 – Доля реципиентов (%) с фиброзом миокарда трансплантата в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения

С течением времени после трансплантации доля случаев с фиброзом миокарда трансплантата у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения трансплантированного сердца, также увеличивается, однако в меньшей степени, чем у реципиентов, перенесших острое отторжение.

В ранние сроки после трансплантации у пациентов, не перенесших кризы острого отторжения, фиброз миокарда трансплантата был выявлен у 27 (55%) из 49 реципиентов. Спустя год после трансплантации фиброз миокарда трансплантата среди реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения, верифицирован у 23 (65%) из 35 реципиентов; т.е. доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата возросла на 18% в сравнении с ранним посттрансплантационным периодом. Спустя 1-5 лет после трансплантации фиброз миокарда трансплантата с верифицирован у 24 (75%) из 32-х реципиентов – доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата возросла еще на 15% в сравнении с первым годом после ТС.

Таким образом, число выявленных случаев фиброза миокарда трансплантата за период от одного месяца до одного-пяти лет после трансплантации у реципиентов, не перенесших кризов острого отторжения, возросло на 37%.

Далее представлены определения относительного риска фиброза миокарда трансплантата у реципиентов сердца, перенесших острое отторжение трансплантата. Анализ провели отдельно для реципиентов, перенесших 1-2 криза, и реципиентов, перенесших 3 и более криза отторжения.

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда в первый месяц после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, значения 95%-ного доверительного интервала, чувствительности и специфичности теста, представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Относительный риск выявления фиброза миокарда в первый месяц после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения

Число перенесенных кризов	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
1-2	0,8±0,1	0,5	1,1	46	43
3 и более	0,7±0,4	0,3	1,7	6	89

К концу первого месяца после трансплантации из 124-х пациентов, включенных в исследование, 64 пациента перенесли 1-2 криза острого отторжения, 11 пациентов перенесли 3 и более криза острого отторжения и у 49 пациентов не было верифицировано кризов.

В первый месяц после трансплантации среди реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения, фиброз верифицирован у 27 (42%) из 64-х реципиентов; перенесших 3 и более криза – у 4-х (36%) из 11-ти; среди реципиентов, у которых не было верифицировано кризов – у 27 (55%) из 49 пациентов. Границы доверительного интервала включали единицу, следовательно, влияние наличия и числа перенесенных кризов острого отторжения на риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов в первый месяц после трансплантации не было статистически значимым.

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда спустя год после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, значения 95%-ного доверительного интервала, чувствительности и специфичности теста, представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Относительный риск выявления фиброза миокарда спустя год после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения

Число перенесенных кризов	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
1-2	0,7±0,1	0,5	0,9	45	36
3 и более	1,3±0,1	0,9	1,7	23	88

Спустя год после трансплантации из 124-х пациентов, включенных в исследование, 66 пациентов перенесли 1-2 криза острого отторжения, 23 пациента перенесли 3 и более криза острого отторжения, и у 35 пациентов не было верифицировано кризов.

Спустя год после трансплантации среди 66-ти реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения, фиброз верифицирован у 34-х (52%) реципиентов; перенесших 3 и более криза – у 17 (74%) из 23-х пациентов; среди 35-ти реципиентов, у которых не было верифицировано кризов – у 23 (66%). Границы доверительного интервала включали единицу, следовательно, влияние числа перенесенных кризов острого отторжения на риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов спустя год после трансплантации не было статистически значимым.

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, значения 95%-ного доверительного интервала, чувствительности и специфичности теста, представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Относительный риск выявления фиброза миокарда спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения

Число перенесенных кризов	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
1-2	0,8±0,1	0,7	1,0	45	41
3 и более	1,2±0,0	1,0	1,4	29	86

Спустя 1-5 лет после трансплантации из 124-х пациентов, включенных в исследование, 60 пациентов перенесли 1-2 криза острого отторжения, 32 пациента перенесли 3 и более криза острого отторжения, и у 32-х пациентов не было верифицировано кризов.

Спустя 1-5 лет после трансплантации среди 60-ти реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения, фиброз верифицирован у 43-х (72%) реципиентов; перенесших 3 и более криза – у 28 (88%) из 32-х; среди 32-х реципиентов, у которых не было верифицировано кризов – у 24-х (75%).

Спустя год после трансплантации у реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения, влияние этих эпизодов на риск развития фиброза миокарда трансплантата не было статистически значимым (границы доверительного интервала включали единицу).

Спустя 1-5 лет после трансплантации относительный риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших 3 и более криза, был выше в 1,2 раза, чем у реципиентов, не перенесших или перенесших 1-2 криза острого отторжения. RR = 1,2±0,1; 95% ДИ 1,0–1,4, чувствительность и специфичность составили 29% и 86%, соответственно.

В то же время, полученные результаты показывают, что острое отторжение трансплантата влияет на развитие фибротических изменений миокарда трансплантированного сердца.

На рисунке 25 представлена доля реципиентов с фиброзом миокарда в первый месяц после трансплантации сердца у реципиентов, перенесших кризы ОКО и AMR.

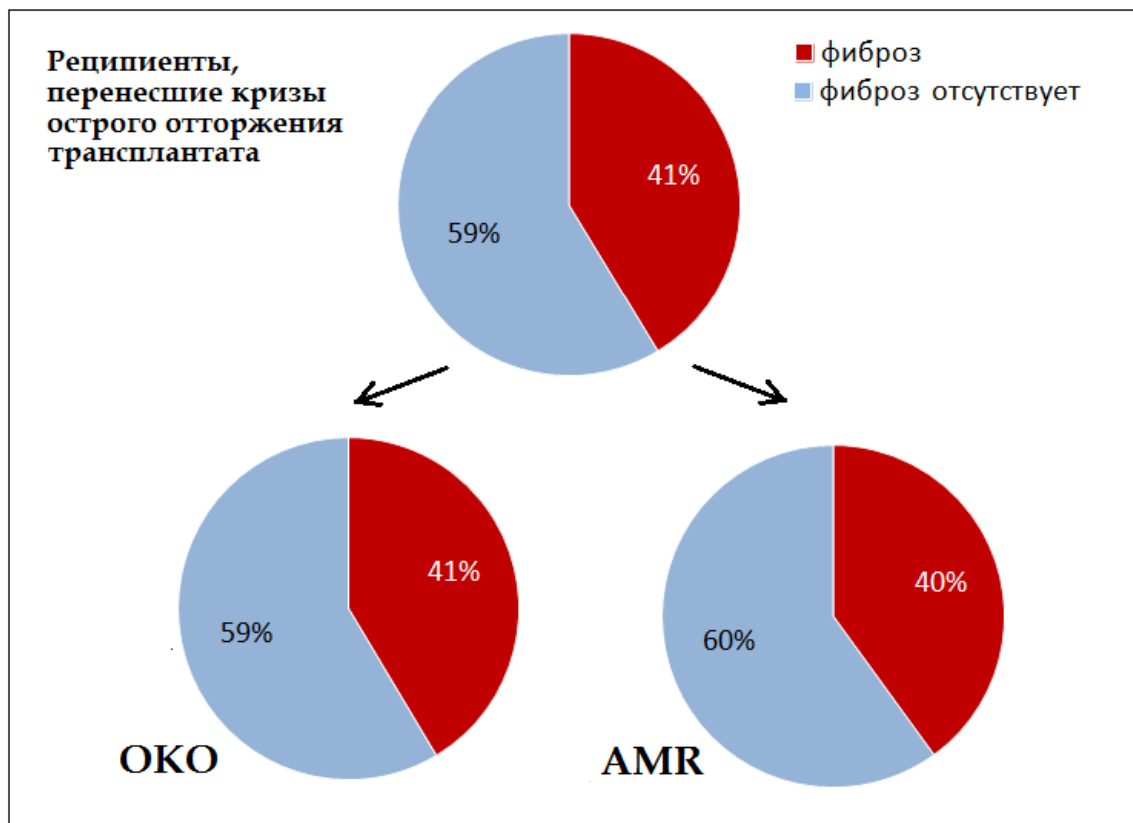


Рисунок 25 – Доля реципиентов (%) с фиброзом миокарда в первый месяц после трансплантации сердца среди реципиентов, перенесших кризы острого клеточного (ОКО) и гуморального (AMR) отторжения

К концу первого месяца после трансплантации из 124-х пациентов, включенных в исследование, 75 перенесли кризы острого отторжения трансплантированного сердца: у 70 реципиентов выявлены кризы ОКО, у 5 – AMR. Среди реципиентов, перенесших кризы ОКО, у 29 (41%) пациентов верифицирован фиброз миокарда трансплантата; среди реципиентов, перенесших кризы AMR – у двоих (40%) пациентов.

На рисунке 26 представлена доля реципиентов с фиброзом миокарда спустя год после трансплантации сердца из числа реципиентов, перенесших кризы ОКО и AMR.

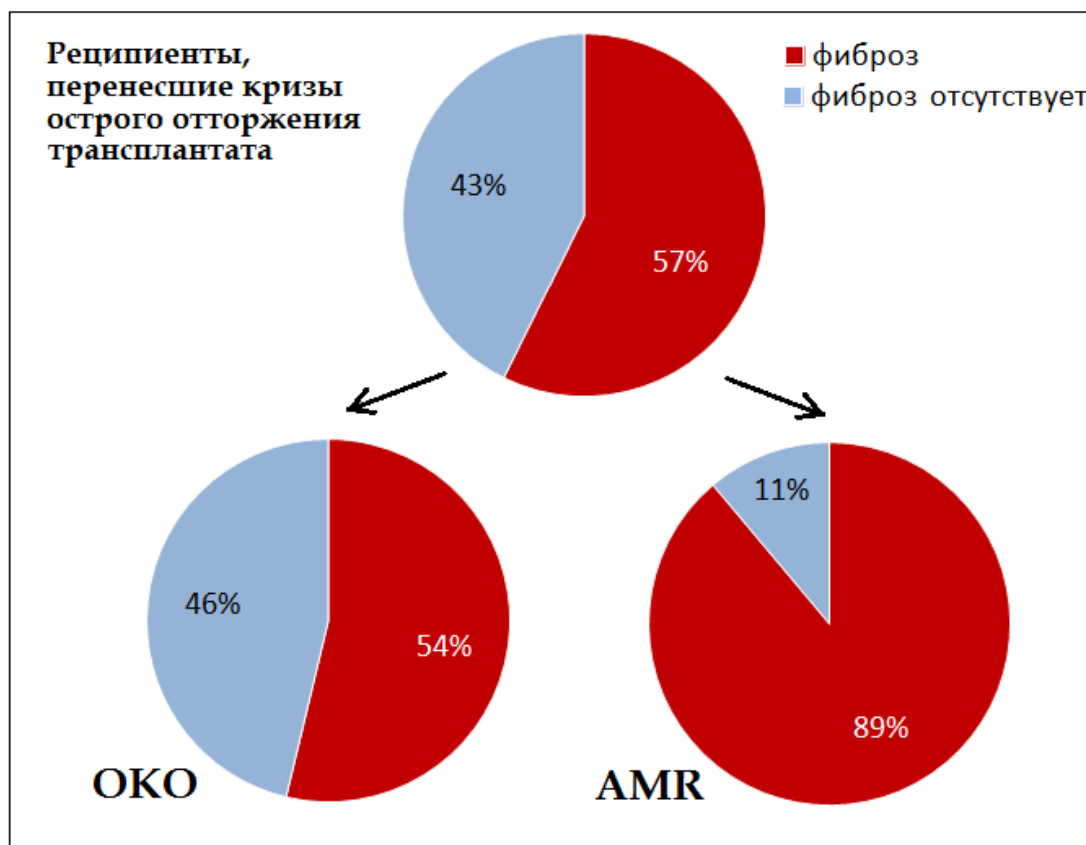


Рисунок 26 – Доля реципиентов (%) с фиброзом миокарда спустя год после трансплантации сердца из числа реципиентов, перенесших кризы острого клеточного (ОКО) и гуморального (AMR) отторжения

Спустя год после трансплантации из 124-х реципиентов 89 перенесли кризы острого отторжения трансплантата, среди которых у 80 реципиентов развилось ОКО, у 9 – AMR. Среди 80-ти реципиентов, перенесших кризы ОКО, было 43 (54%) пациента с верифицированным фиброзом миокарда трансплантата; среди 9-ти реципиентов, перенесших кризы AMR – 8 (89%).

Данные расчета относительного риска развития фиброза миокарда трансплантата спустя год после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы ОКО, не достигали статистической значимости. Относительный риск развития фиброза, у реципиентов, перенесших кризы AMR, составил $1,54 \pm 0,1$ [95% ДИ 1,1–2,0], чувствительность и специфичность составили 11% и 98%, соответственно. Низкая чувствительность теста свидетельствует о том, что наличие фиброза миокарда трансплантата выявляется не только у реципиентов, перенесших AMR, но также и у большинства реципиентов, не перенесших

острого гуморального отторжения. В связи с низкой диагностической чувствительностью данный тест не может быть применим в клинической практике, хотя и обладает достоверным диагностическим значением.

На рисунке 27 представлена доля реципиентов в более отдаленные сроки – спустя 1-5 лет после трансплантации с фиброзом миокарда трансплантата сердца у реципиентов, перенесших кризы ОКО и AMR.

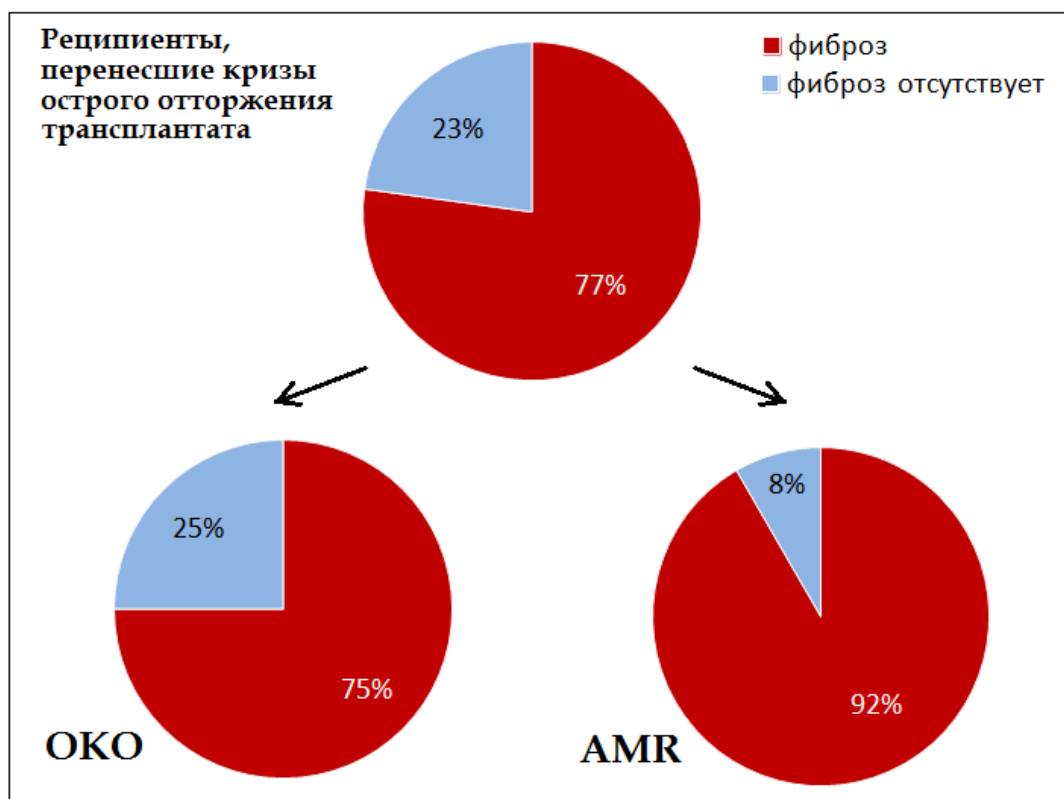


Рисунок 27 – Доля реципиентов (%) с фиброзом миокарда спустя 1-5 лет после трансплантации сердца у реципиентов, перенесших кризы острого клеточного (ОКО) и гуморального (AMR) отторжения

Спустя 1-5 лет после трансплантации из 124-х реципиентов 92 перенесли кризы острого отторжения трансплантата, среди которых у 80 реципиентов развилось ОКО и у 12 – AMR. Среди 80-ти реципиентов, перенесших кризы ОКО, было 60 (75%) пациентов с верифицированным фиброзом миокарда трансплантата; среди 12-ти реципиентов, перенесших кризы AMR – 11 (92%) пациентов. У реципиентов, перенесших кризы гуморального отторжения, фиброз

миокарда трансплантата выявляется чаще (почти у каждого), чем у реципиентов, перенесших кризы острого клеточного отторжения.

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда трансплантата спустя год после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы ОКО не достигали статистической значимости. Относительный риск развития фиброза, у реципиентов, перенесших кризы AMR, составил $1,31 \pm 0,1$ [95% ДИ 1,1–1,6], чувствительность и специфичность составили 14% и 96%, соответственно. В связи с низкой диагностической чувствительностью данный тест не может быть применим в клинической практике, хотя и обладает достоверным диагностическим значением.

Таким образом, сравнительный анализ показал, что число выявленных случаев фиброза миокарда трансплантата спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, возросло на 88%; у реципиентов, не перенесших кризов острого отторжения – на 37% в сравнении с числом случаев фиброза миокарда, выявленных в раннем посттрансплантационном периоде. Спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших гуморальное отторжение, фиброз миокарда трансплантата выявляется в 92% случаев, у реципиентов, перенесших кризы острого клеточного отторжения – в 75% случаев. Однако, сами по себе данные о числе перенесенных кризов острого клеточного и/или гуморального отторжения не имеют диагностической значимости для выявления риска фиброза миокарда в силу их низкой чувствительности.

4.3 Сравнительный анализ содержания галектина-3 в плазме крови реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата и без такового

Спустя месяц после ТС среди исследованных образцов эндомиокардиальных биоптатов от 46 реципиентов выявлено 32 пациента с патологическими изменениями в миокарде, свидетельствующими о наличии фиброза различной степени выраженности, и 14 – без таковых изменений.

Распределение значений галектина-3 в первый месяц после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда и без такового представлено на рисунке 28.

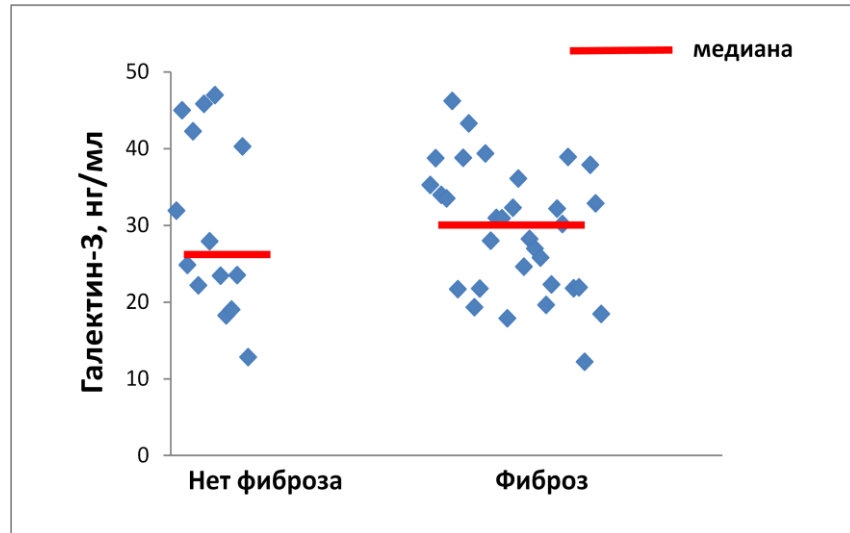


Рисунок 28 – Распределение значений галектина-3 в первый месяц после трансплантации у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового

Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 в первый месяц после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового представлен на рисунке 29.

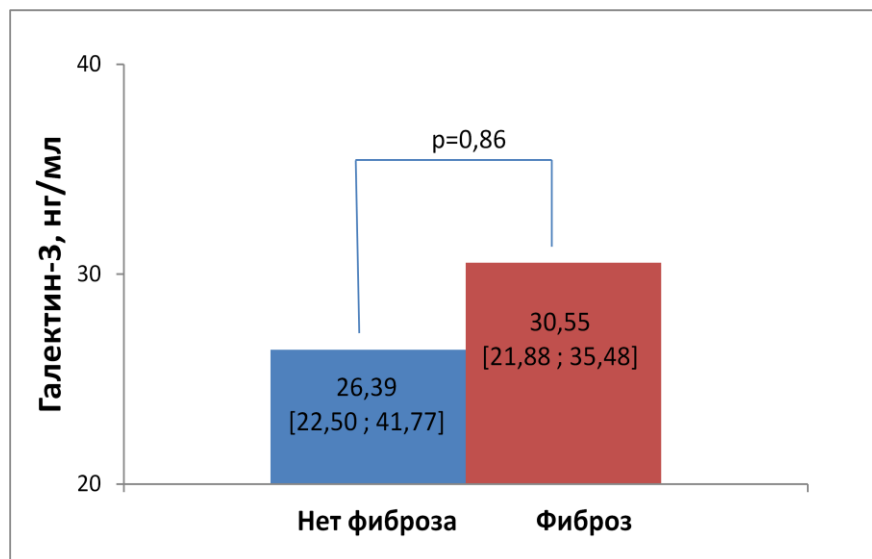


Рисунок 29 – Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя месяц после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового

Спустя месяц после трансплантации не выявлено достоверных различий медианы концентраций галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца, в образцах миокарда которых был выявлен фиброз, и реципиентов без такового, хотя имела место тенденция к более высокому содержанию галектина-3 у реципиентов с фибротическими изменениями в миокарде трансплантата, чем без таковых (30,55 [21,88 ; 35,48] нг/мл и 26,39 [22,50 ; 41,77] нг/мл, соответственно, $p=0,86$).

При гистологическом исследовании ЭМБ проводилась оценка не только наличия фиброза миокарда трансплантата, но и характер фибротических изменений миокарда.

На основании сравнительного анализа медианы концентраций галектина-3 в первый месяц после трансплантации у реципиентов с разными видами фиброза миокарда и без такового, выявлено, что концентрации галектина-3 у реципиентов с диффузным ($n=7$; 26,98 [23,85; 30,77] нг/мл, $p=0,53$), с очаговым ($n=22$; 30,94 [21,94; 37,24] нг/мл, $p=0,90$) и диффузно-очаговым фиброзом ($n=3$; 32,29 [27,04; 34,19] нг/мл, $p=0,96$) достоверно не отличались от концентрации галектина-3 у реципиентов без фибротических изменений миокарда. Однако, у реципиентов с диффузно-очаговым фиброзом концентрация галектина-3 была выше, в сравнении с другими видами фиброза.

Распределение значений галектина-3 спустя год после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового представлено на рисунке 30.

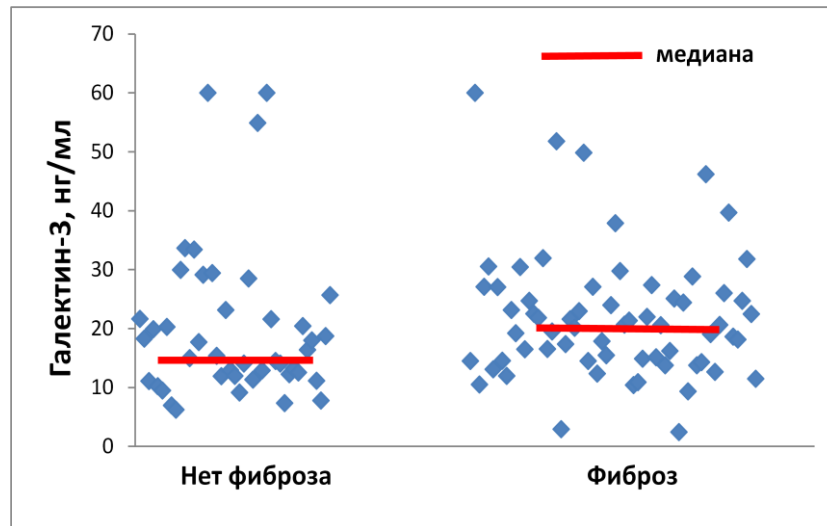


Рисунок 30 – Распределение значений галектина-3 спустя год после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового

Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя год после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового представлен на рисунке 31.

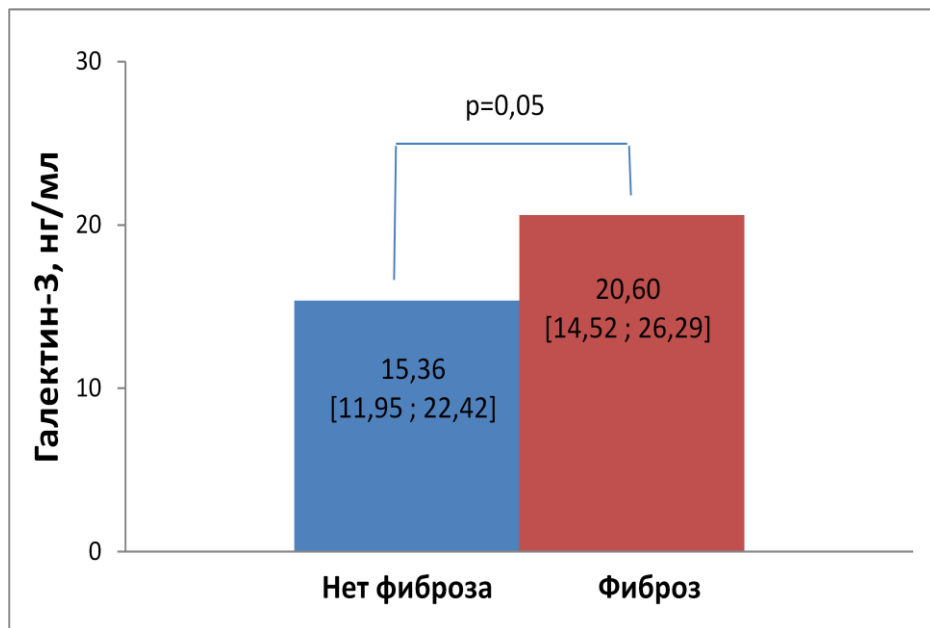


Рисунок 31 – Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя год после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового

Спустя год после ТС из 107 реципиентов у 64-х в образцах ЭМБ обнаружены фибротические изменения миокарда трансплантата. Медианы

концентраций галектина-3 у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата составили 20,60 [14,52 ; 26,29] нг/мл, без такового – 15,36 [11,95 ; 22,42] нг/мл; различия были достоверны ($p=0,05$).

Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя год после ТС у реципиентов с разными видами фиброза миокарда трансплантата и без фиброза представлен на рисунке 32.

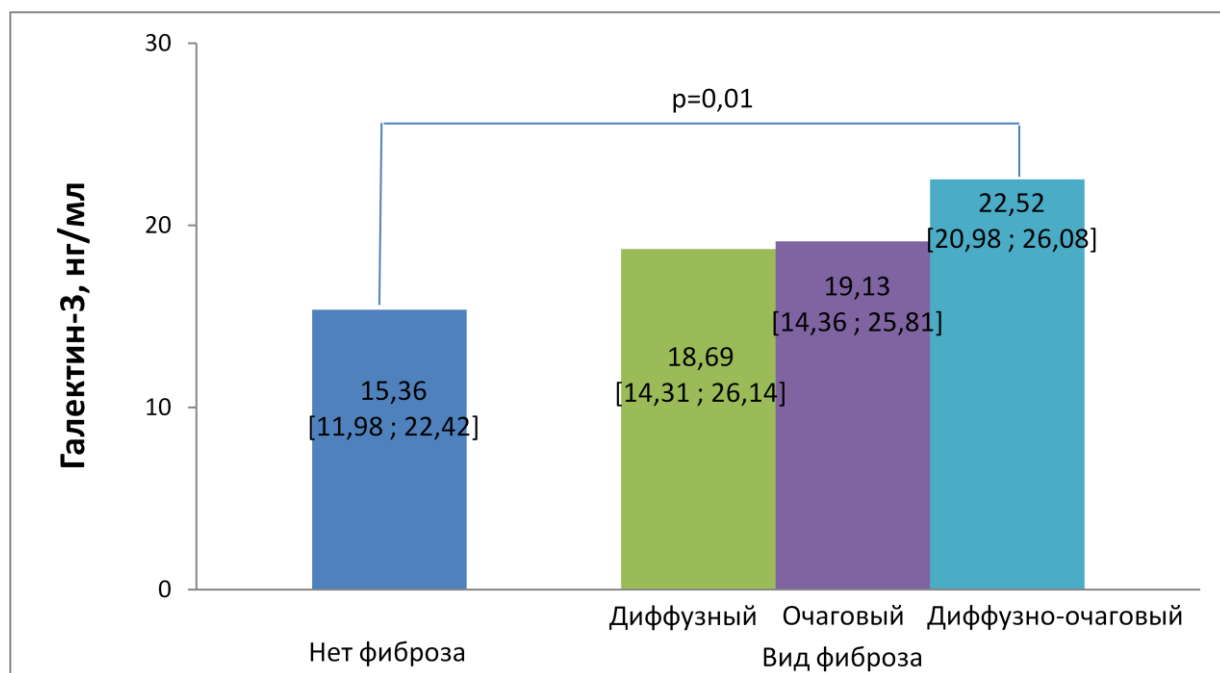


Рисунок 32 – Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя год после трансплантации сердца у реципиентов с разными видами фиброза миокарда и без фиброза

Результаты анализа показали, что уровень галектина-3 спустя год после ТС в плазме крови реципиентов был связан с характером фибротических изменений в миокарде. У реципиентов с диффузно-очаговым фиброзом уровень галектина-3 был достоверно выше в сравнении с пациентами без фиброза ($n=10$; 22,52 [20,98 ; 26,08] нг/мл и 15,36 [11,98 ; 22,42] нг/мл, соответственно, $p=0,01$). У пациентов с диффузным фиброзом ($n=16$; 18,69 [14,31 ; 26,14] нг/мл), как и у пациентов с очаговым ($n=38$; 19,13 [14,36 ; 25,81] нг/мл) не было обнаружено достоверных различий, в сравнении с пациентами без фиброза ($p=0,26$ и $p=0,19$, соответственно).

Распределение значений галектина-3 спустя 1-5 лет после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового представлено на рисунке 33.

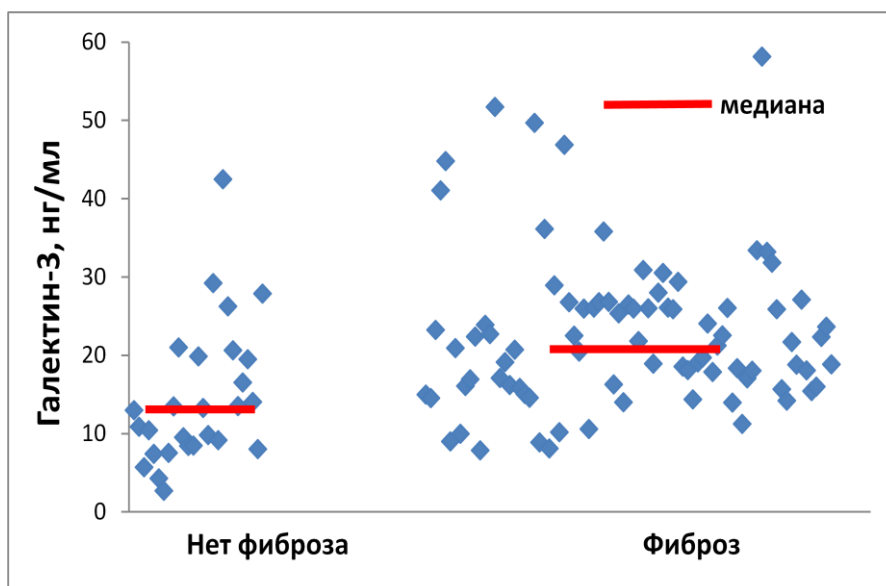


Рисунок 33 – Распределение значений галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового

Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового представлен на рисунке 34.

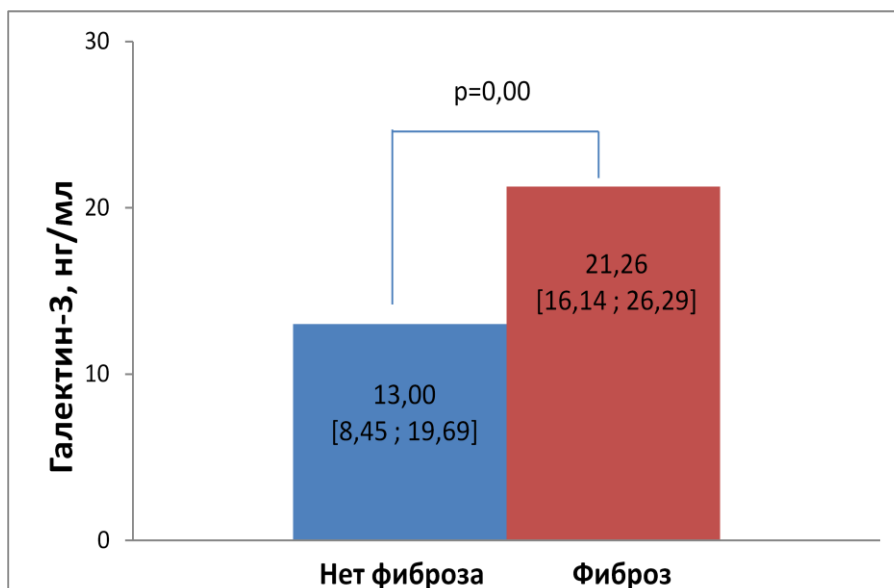
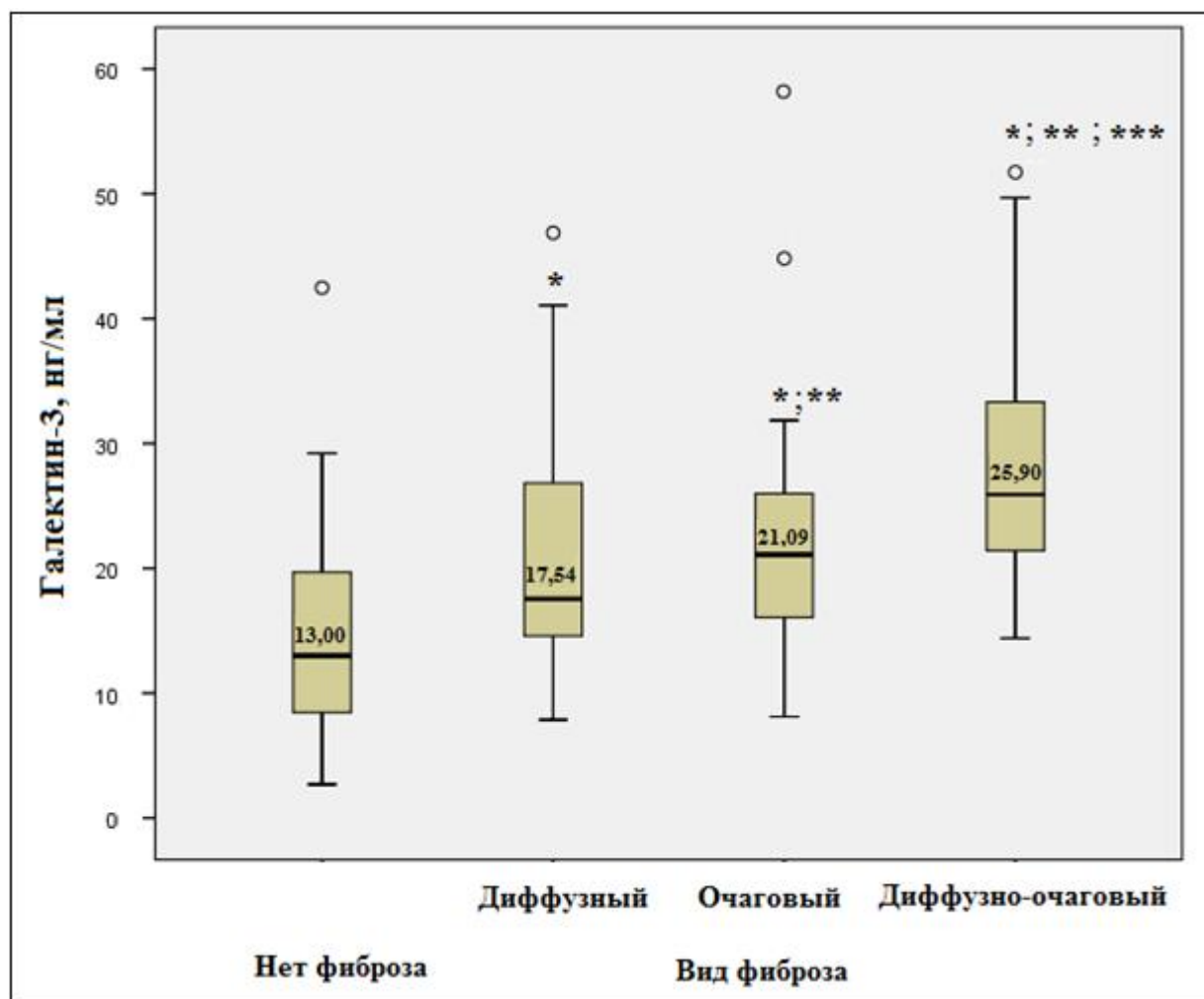


Рисунок 34 – Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового

Спустя 1-5 лет после ТС из 110 реципиентов у 83-х в образцах ЭМБ обнаружены фибротические изменения миокарда трансплантата. Медианы концентраций галектина-3 у реципиентов с наличием фиброза миокарда составили 21,26 [16,14; 26,29] нг/мл, без такового – 13,00 [8,45; 19,69] нг/мл; различия были достоверны ($p=0,00$).

Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после ТС у реципиентов с наличием фиброза миокарда и без такового представлен на рисунке 35.



- * $p < 0,05$, в сравнении с отсутствием фиброза
 ** $p < 0,05$, в сравнении с диффузным фиброзом
 *** $p < 0,05$, в сравнении с очаговым фиброзом

Рисунок 35 – Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации сердца у реципиентов с разными видами фиброза миокарда и без такового

Спустя 1-5 лет после ТС высокие концентрации галектина-3 связаны с видом фиброза миокарда: более высокие значения у реципиентов сердца с диффузно-очаговым фиброзом ($n=15$; 25,90 [21,43; 33,30] нг/мл). У реципиентов с диффузным фиброзом ($n=18$; 17,54 [14,85 ; 26,81] нг/мл), как и у реципиентов с очаговым фиброзом ($n=50$; 21,09 [16,29 ; 25,97] нг/мл) уровень галектина-3 был достоверно выше в сравнении с пациентами без фиброза миокарда (13,00 [8,45 ; 19,69] нг/мл), $p=0,01$ и $p=0,00$, соответственно.

Сравнительный анализ уровней галектина-3 в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда трансплантата и без такового представлен на рисунке 36.

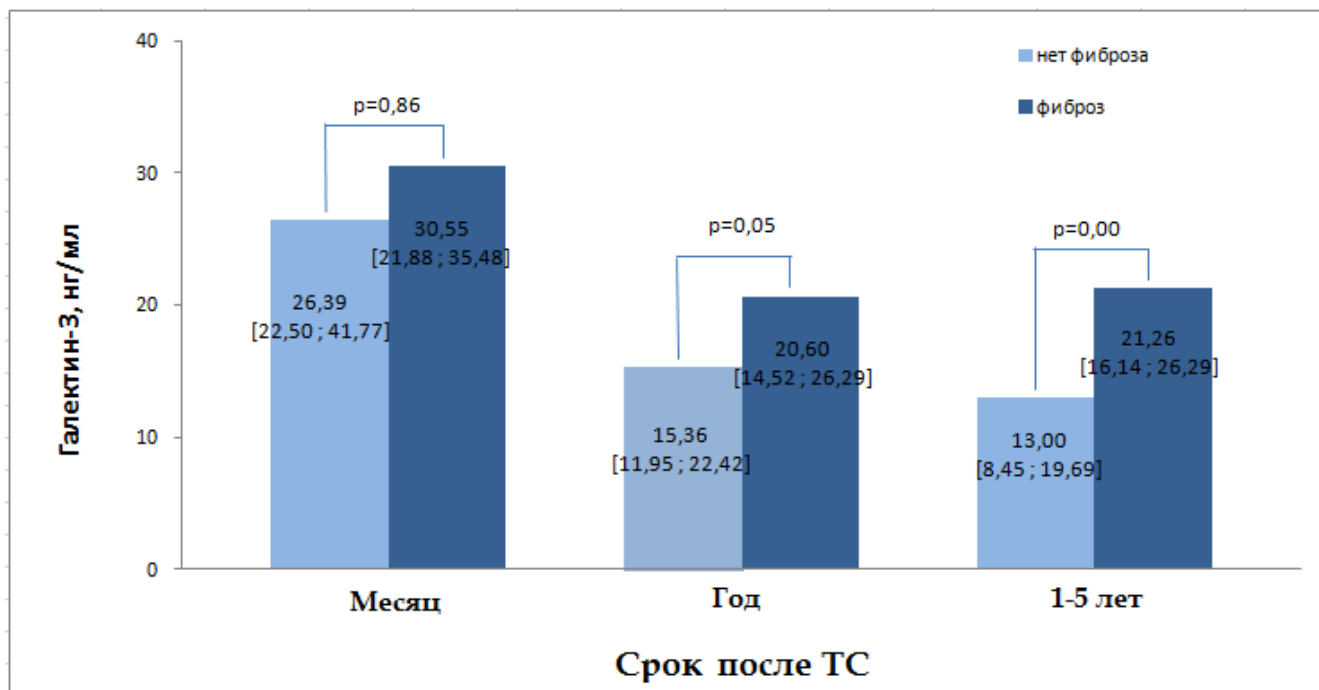


Рисунок 36 – Сравнительный анализ медианы концентраций галектина-3 в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца у реципиентов с наличием фиброза миокарда и без такового

При исследовании медианы концентраций галектина-3 в отдаленные сроки после трансплантации сердца были выявлены достоверные различия у пациентов с наличием фиброза в миокарде трансплантата и без такового. Повышенное содержание галектина-3 свидетельствует о наличии фибротических изменений, верифицированных по результатам ЭМБ. У реципиентов сердца при отсутствии фиброза миокарда трансплантата прослеживается тенденция к снижению концентрации галектина-3 в плазме крови с течением времени после трансплантации до уровня, характерного для здоровых лиц. Медианы концентраций галектина-3 у здоровых лиц 11,08 [7,71; 14,47] нг/мл и у реципиентов спустя 1-5 лет после ТС при отсутствии фиброза миокарда трансплантата 13,00 [8,45 ; 19,69] нг/мл не различались ($p=0,29$).

Доля реципиентов, в образцах которых в ранние и отдаленные сроки после трансплантации выявлены гистологические признаки фиброза миокарда трансплантата, представлена на рисунке 37.

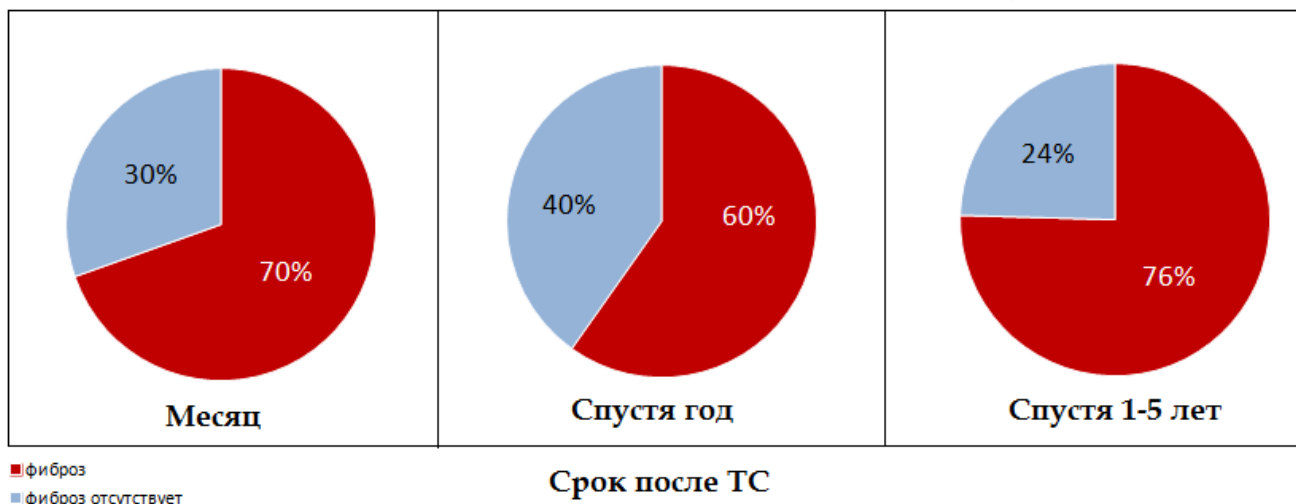


Рисунок 37 – Доля реципиентов (%), в образцах которых в ранние и отдаленные сроки после трансплантации выявлены гистологические признаки фиброза миокарда трансплантата

К концу первого месяца после трансплантации у 32-х (70 %) из 46 включенных в исследование реципиентов сердца были выявлены патологические изменения в миокарде – фиброз трансплантата, у 14 (30 %) реципиентов не было обнаружено данной патологии. Спустя год после ТС по результатам ЭМБ у 64-х (60 %) из 107 включенных в исследование реципиентов верифицирован фиброз миокарда и у 43-х (40 %) реципиентов фиброз отсутствовал. Спустя 1-5 лет после ТС уже у 83-х (76 %) из 110 включенных в исследование реципиентов верифицирован фиброз миокарда трансплантата и только лишь у 27 (24 %) фиброз отсутствовал. Учитывая, что в первый месяц после трансплантации в исследование было включено лишь 46 реципиентов, доля реципиентов с верифицированным фиброзом миокарда трансплантата была выше, чем спустя год после трансплантации, где исследовано было 107 реципиентов после ТС. Спустя 1-5 лет после трансплантации доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата увеличилась на 26% в сравнении с первым годом после ТС.

Доля реципиентов с фиброзом миокарда в ранние и отдаленные сроки после трансплантации, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, представлена на рисунке 38.

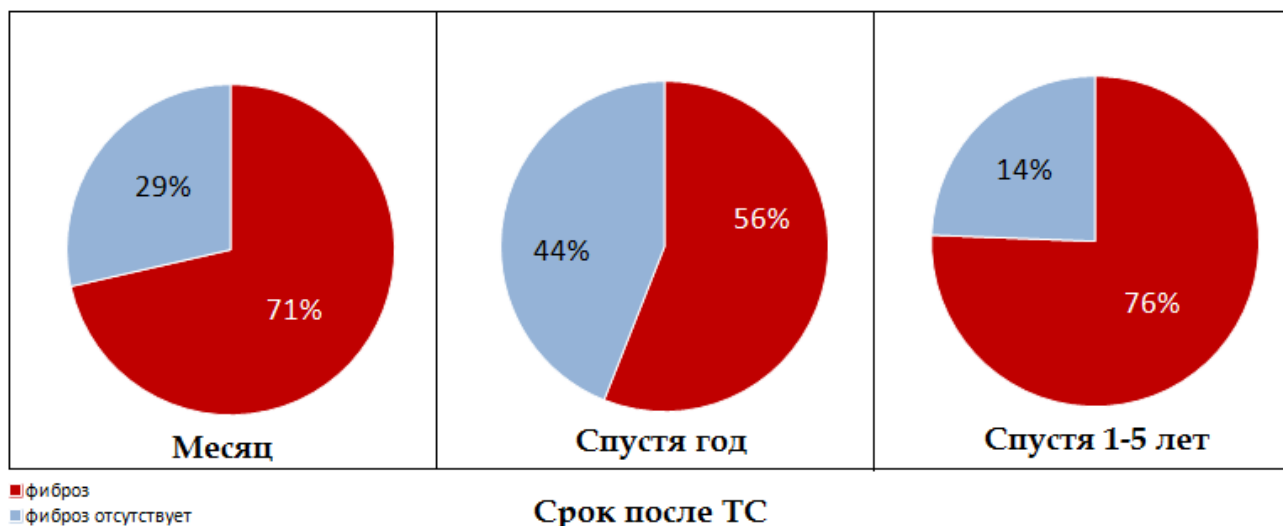


Рисунок 38 – Доля реципиентов (%) с фиброзом миокарда трансплантата в ранние и отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата

К концу первого месяца после трансплантации у 20 (71 %) из 28 реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, был выявлен фиброз миокарда трансплантата. У 8 (29 %) в первый месяц после трансплантации по данным ЭМБ не было обнаружено гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата. Спустя год после ТС по результатам ЭМБ у 42-х (56 %) из 75 реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, был выявлен фиброз миокарда трансплантата, у 33-х (56 %) реципиентов фиброз отсутствовал. Спустя 1-5 лет после ТС уже у 62-х (76 %) из 82-х реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, верифицирован фиброз миокарда трансплантата и только у 20 (14 %) фиброз отсутствовал. Спустя 1-5 лет после трансплантации доля реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата, перенесших кризы острого отторжения увеличилась на 36% в сравнении с первым годом после ТС.

По данным, полученным в настоящей главе, с течением времени после трансплантации сердца увеличивается доля реципиентов с выявленными фибротическими изменениями в миокарде трансплантата; увеличивается частота встречаемости диффузно-очагового фиброза.

Сравнительный анализ связи гистологических признаков фиброза миокарда с наличием и отсутствием перенесенных кризов острого отторжения трансплантата показал увеличение доли реципиентов с гистологическими признаками фиброза в обеих группах с течением времени после трансплантации. Однако, выявление гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, возросло в 2 раза (на 88%), чем у реципиентов при отсутствии таких кризов (на 37%), в сравнении с ранним посттрансплантационным периодом. Также замечено, что спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы гуморального отторжения, фиброз миокарда трансплантата выявляется чаще (в 92% случаев), чем у реципиентов, перенесших кризы острого клеточного отторжения (в 75% случаев). Однако, факт наличия перенесенных кризов острого отторжения трансплантата не является прогностическим значением в отношении развития фиброза миокарда трансплантата.

При исследовании концентрации галектина-3, выявлено, что повышенное содержание имеет место у реципиентов с наличием фибротических изменений трансплантированного сердца, выявленных на основании ЭМБ. Уровень галектина-3 в отдаленные сроки после трансплантации связан с видом фиброза миокарда трансплантата: более высокие значения галектина-3 при диффузно-очаговом фиброзе.

В ходе нашего исследования не выявлено различий в медианах концентраций галектина-3 у здоровых лиц и у реципиентов сердца с отсутствием гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата в отдаленные сроки после трансплантации сердца.

ГЛАВА 5 АНАЛИЗ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ГАЛЕКТИНА-3, У РЕЦИПИЕНТОВ СЕРДЦА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

В ходе настоящего исследования выявлена связь между перенесенными кризами острого отторжения трансплантированного сердца и развитием фибротических изменений в миокарде трансплантата, однако установлено, что сама по себе информация о количестве и характере перенесенных кризов острого отторжения не имеет диагностической и практической значимости в отношении фиброза миокарда трансплантата. В то же время, было установлено, что уровень галектина-3 выше у реципиентов сердца с верифицированным при ЭМБ фиброзом миокарда трансплантата. Более того, уровень галектина-3 выше у реципиентов, перенесших острое отторжение трансплантата. Дальнейшее изучение и валидация теста на галектин-3 позволит оценить возможность и эффективность его использования для выявления риска развития патологий у реципиентов сердца. В связи с этим, в настоящей главе выполнены следующие этапы исследования:

- рассчитана диагностически значимая пороговая концентрация галектина-3 в отношении фиброза миокарда трансплантата у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации;
- охарактеризовано диагностическое значение галектина-3 в отношении фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, и без таковых.

5.1 Анализ диагностической значимости галектина-3 у реципиентов сердца в отношении фиброза миокарда трансплантата

Анализ диагностической значимости галектина-3 в качестве маркера фиброза миокарда трансплантата в отдаленные сроки после ТС проводили с учетом анализа ROC-кривой.

На рисунке 39 представлена ROC-кривая галектина-3 у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата спустя год после трансплантации.

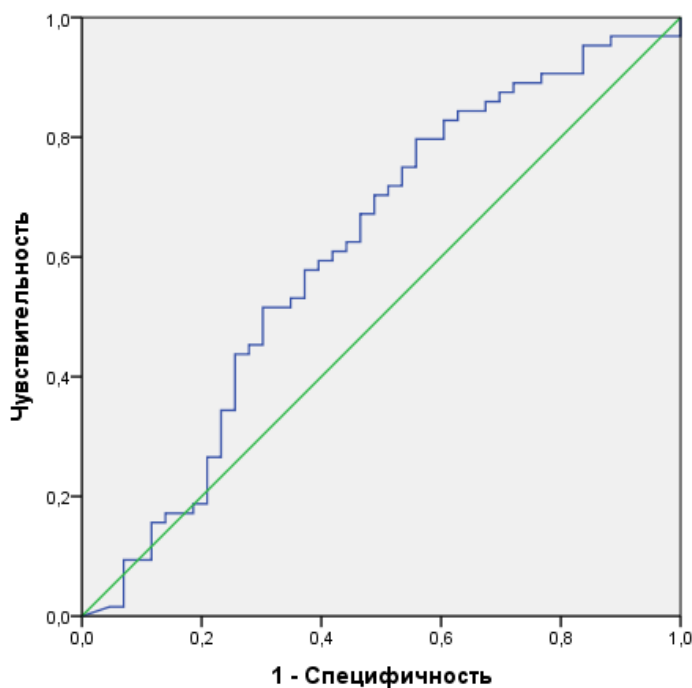


Рисунок 39 – ROC-кривая галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата

Расчеты показали, что площадь под ROC-кривой галектина-3 спустя год после трансплантации у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата составила $0,612 \pm 0,058$ [0,49 – 0,72] и достоверно ($p=0,050$) отличалась от величины 0,5.

На рисунке 40 представлена ROC-кривая галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата.

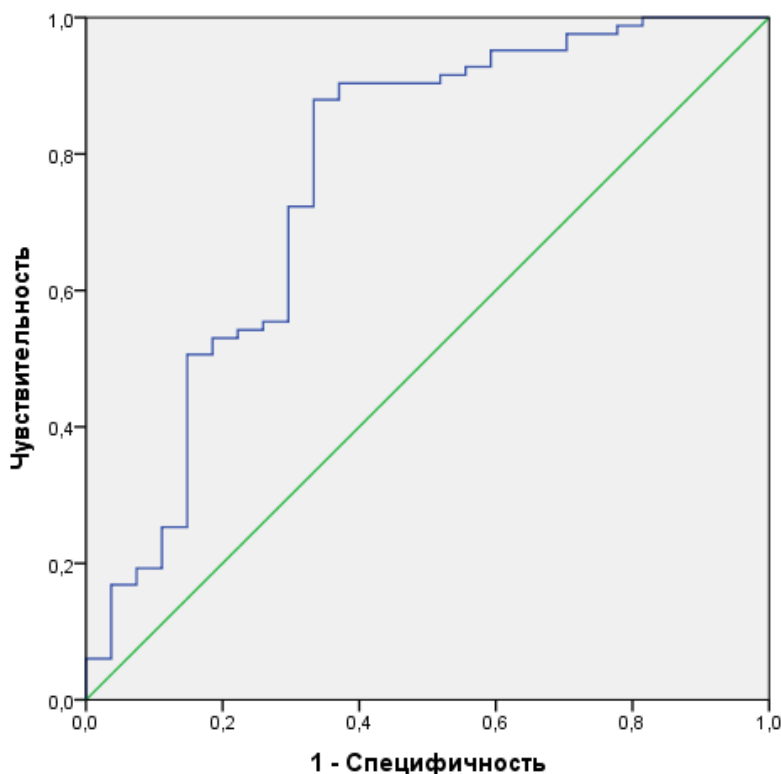


Рисунок 40 – ROC-кривая галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата

Расчеты показали, что площадь под ROC-кривой галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата составила $0,765 \pm 0,060$ [0,64 – 0,88] и достоверно ($p=0,00$) отличалась от величины 0,5.

Пороговые уровни галектина-3, значимые для диагностики фиброза миокарда трансплантата спустя год и спустя 1-5 лет после трансплантации сердца, определяли в точке по оптимальному сочетанию значений чувствительности и специфичности. На графике зависимостей чувствительности и специфичности от концентрации галектина-3 в плазме крови, точка пересечения кривых отражает величину порогового уровня (рисунок 41 и рисунок 42).

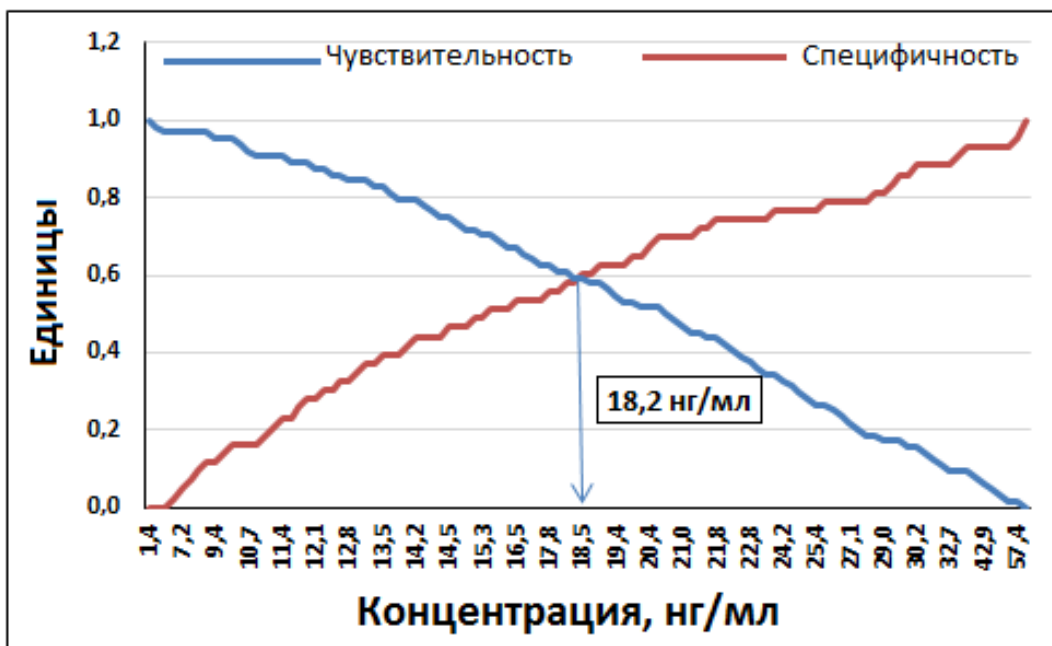


Рисунок 41 – Определение диагностически значимого порогового значения уровня галектина-3 у реципиентов спустя год после трансплантации в отношении фиброза миокарда трансплантата

Пороговое значение галектина-3 спустя год после трансплантации, значимое для диагностики фиброза миокарда трансплантата, составило 18,2 нг/мл.

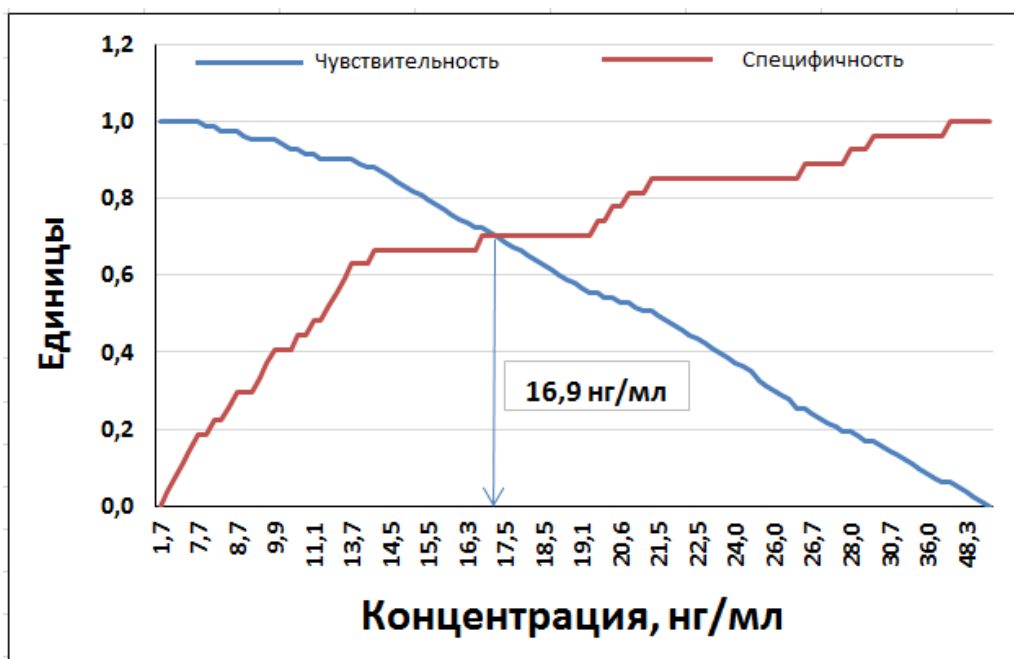


Рисунок 42 – Определение диагностически значимого порогового значения уровня галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации в отношении фиброза миокарда трансплантата

Спустя 1-5 лет после трансплантации пороговое значение галектина-3, значимое для диагностики фиброза миокарда трансплантата, составило 16,9 нг/мл.

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда у реципиентов в отдаленные сроки после трансплантации при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение; 95%-ного доверительного интервала, а также значений чувствительности и специфичности теста на галектин-3, представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Относительный риск выявления фиброза миокарда в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов при концентрации галектина-3 выше рассчитанного порогового значения

Срок после ТС	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
Спустя год	1,3±0,1	0,9	1,8	59	58
Спустя 1-5 лет	1,6±0,1	1,2	2,0	71	70

Спустя год после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 18,2$ нг/мл) у 56 реципиентов, из них у 38 (68 %) по результатам ЭМБ верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 18,2$ нг/мл) спустя год после ТС у 51 реципиента, у 26 (51 %) верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Границы доверительного интервала включали единицу, следовательно, влияние концентрации галектина-3 на риск развития фиброза миокарда трансплантата, у реципиентов спустя год после трансплантации не было статистически значимым.

Спустя 1-5 лет после трансплантации уровень галектина-3 был выше порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) у 67 реципиентов, из них у 59 (88 %) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл) спустя 1-5 лет после ТС у 43 реципиентов, у 24 (55 %) верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Спустя 1-5 лет после трансплантации при концентрации галектина-3 выше

порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) риск выявления фиброза миокарда трансплантата у реципиентов в 1,6 раза выше, чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл). Относительный риск составил $1,6 \pm 0,1$ [95% ДИ 1,2–2,0], чувствительность и специфичность составили 71% и 70%, соответственно.

Таким образом, диагностическая чувствительность галектина-3 составила 71%, это означает, что только у 24-х (29%) из 83-х реципиентов сердца с гистологическими признаками фиброза миокарда трансплантата уровень галектина-3 был ниже рассчитанного порогового значения. Диагностическая специфичность галектина-3 составила 70%, это означает, что только у 8 (30%) из 27 реципиентов сердца с отсутствием гистологических признаков фиброза миокарда трансплантата уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения.

Таким образом, диагностически значимое пороговое значение галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации сердца в отношении фиброза миокарда трансплантата составило 16,9 нг/мл; при уровне галектина-3, превышающем пороговое значение, вероятность риска наличия фиброза выше в 1,6 раза (при чувствительности и специфичности 71% и 70%, соответственно), чем у пациентов с уровнем ниже этого порогового значения.

5.2 Анализ диагностической значимости галектина-3 в отношении фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение, представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Относительный риск выявления фиброза миокарда в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение

Срок после ТС	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
Год	1,36±0,2	0,9	2,0	66	54
1-5 лет	1,64±0,1	1,1	2,2	71	75

Спустя год после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 18,2$ нг/мл) у 46 реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, из них у 28 (61%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 18,2$ нг/мл) у 29 реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, из них у 14 (48%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Границы доверительного интервала включали единицу, следовательно, влияние концентрации галектина-3 спустя год после трансплантации на риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, не было статистически значимым.

Спустя 1-5 лет после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) у 49 реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, из них у 44 (90%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл) у 33 реципиентов, перенесших кризы острого

отторжения, из них у 18 (54%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата при уровне галектина-3, выше порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) риск развития фиброза миокарда трансплантата выше в 1,64 раза, чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл). Относительный риск составил $1,64 \pm 0,1$ [95% ДИ 1,1–2,2], чувствительность и специфичность составили 71% и 75%, соответственно.

Таким образом, диагностическая чувствительность галектина-3 составила 71%, это означает, что только у 18 (29%) из 62-х реципиентов сердца с гистологическими признаками фиброза миокарда, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, уровень галектина-3 был ниже рассчитанного порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл). Диагностическая специфичность галектина-3 составила 75%, это означает, что только у пяти (25%) из 20 реципиентов сердца с отсутствием гистологических признаков фиброза миокарда, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл).

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда спустя год после трансплантации у реципиентов в зависимости от количества перенесенных кризов острого отторжения при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение, представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Относительный риск выявления фиброза миокарда спустя год после трансплантации у реципиентов в зависимости от количества перенесенных кризов острого отторжения при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение

Количество перенесенных кризов	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
1-2	$1,3 \pm 0,2$	0,7	2,3	64	48
3 и более	$0,9 \pm 0,2$	1,5	1,6	71	25

Спустя год после трансплантации из 107 пациентов, включенных в исследование, 57 пациентов перенесли 1-2 криза острого отторжения трансплантата, 18 пациентов – 3 и более криза, у 32-х пациентов не было верифицировано кризов острого отторжения.

Спустя год после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 18,2$ нг/мл) у 33 реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения, среди которых у 18 (55%) реципиентов по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 18,2$ нг/мл) у 24-х реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения, из которых у 10 (42%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Границы доверительного интервала включали единицу, следовательно, влияние концентрации галектина-3 на риск развития фиброза миокарда трансплантата, у реципиентов, перенесших 1-2 криза острого отторжения трансплантата, спустя год после трансплантации не было статистически значимым.

Влияние концентрации галектина-3 на риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших 3 и более криза острого отторжения трансплантата спустя год после трансплантации не было статистически значимым.

Данные расчета относительного риска фиброза миокарда спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов в зависимости от количества перенесенных кризов острого отторжения трансплантата при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение, представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Относительный риск выявления фиброза миокарда спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов в зависимости от количества перенесенных кризов острого отторжения трансплантата при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение

Количество перенесенных кризов	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
1-2	1,7±0,2	1,1	2,8	72	68
3 и более	1,5±0,2	1,0	2,2	69	100

Спустя 1-5 лет после трансплантации из 110 пациентов, включенных в исследование, 52 пациента перенесли 1-2 криза острого отторжения трансплантата, 30 пациентов – 3 и более кризов, у 28 пациентов не было верифицировано кризов острого отторжения.

Спустя 1-5 лет после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) у 31 реципиента, перенесших 1-2 криза острого отторжения, среди них у 26 (84%) реципиентов по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл) у 21 реципиента, перенесших 1-2 криза острого отторжения, из них у 10 (48%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших 1-2 криза, был выше в 1,7 раза, чем у реципиентов, не перенесших или перенесших 3 и более кризов острого отторжения. Относительный риск составил $1,7 \pm 0,2$ [95% ДИ 1,1–2,8], чувствительность и специфичность составили 72% и 68%, соответственно.

Таким образом, диагностическая чувствительность галектина-3 составила 72%, это означает, что только у 10 (28%) реципиентов сердца с гистологическими признаками фиброза миокарда, перенесших 1-2 криза острого отторжения трансплантата, уровень галектина-3 был ниже рассчитанного порогового значения. Диагностическая специфичность галектина-3 составила 68%, это означает, что только у 5 (32%) реципиентов сердца с отсутствием

гистологических признаков фиброза миокарда, перенесших 1-2 криза острого отторжения трансплантата, уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения.

Спустя 1-5 лет после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) у 18 реципиентов, перенесших 3 и более кризов острого отторжения, у всех реципиентов по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 был ниже порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл) у 12 реципиентов, перенесших 3 и более кризов острого отторжения, из них у 8 (67%) по результатам ЭМБ был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Риск развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших 3 и более кризов, был выше в 1,5 раза, чем у реципиентов, не перенесших или перенесших 1-2 криза острого отторжения. Относительный риск составил $1,5 \pm 0,2$ [95% ДИ 1,0–2,2], чувствительность и специфичность составили 69% и 100%, соответственно.

Таким образом, диагностическая чувствительность галектина-3 составила 69%, это означает, что только у 8 (31%) реципиентов сердца с гистологическими признаками фиброза миокарда, перенесших 3 и более кризов острого отторжения трансплантата, уровень галектина-3 был ниже рассчитанного порогового значения. Диагностическая специфичность галектина-3 составила 100%, это означает, что не было выявлено реципиентов с отсутствием гистологических признаков фиброза миокарда, перенесших 3 и более кризов острого отторжения трансплантата, при уровне галектина-3 выше рассчитанного порогового значения.

Данные расчета относительного риска наличия фиброза миокарда трансплантата в отдаленные сроки после трансплантации сердца у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения трансплантата при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение, представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Относительный риск выявления фиброза миокарда в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения трансплантата при концентрации галектина-3, превышающей рассчитанное пороговое значение

Срок после ТС	Относительный риск	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ	Чувствительность %	Специфичность %
Год	1,83±0,1	1,2	2,6	45	100
1-5 лет	1,38±0,2	0,8	2,3	71	57

Спустя год после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 18,2$ нг/мл) у 10 реципиентов, при отсутствии кризов острого отторжения трансплантата у всех был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 ниже рассчитанного порогового значения ($\leq 18,2$ нг/мл) у 22-х реципиентов при отсутствии кризов острого отторжения трансплантата, из них у 12 (54 %) был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Спустя год после трансплантации у реципиентов при отсутствии кризов острого отторжения трансплантата и уровне галектина-3 выше порогового значения риск развития фиброза миокарда трансплантата выше в 1,83 раза, чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже порогового значения. Относительный риск составил $1,83 \pm 0,1$ [95% ДИ 1,2–2,6], чувствительность и специфичность составили 45% и 100%, соответственно.

Диагностическая чувствительность галектина-3 составила 45%, это означает, что более, чем у половины – у 12 (65%) из 22-х реципиентов сердца, не перенесших кризы острого отторжения, но с гистологическими признаками фиброза миокарда, уровень галектина-3 был ниже рассчитанного порогового значения. Диагностическая специфичность галектина-3 составила 100%, это означает, что не было выявлено реципиентов без фиброза миокарда при отсутствии кризов острого отторжения трансплантата. В связи с низкой диагностической чувствительностью данный тест не может быть применен в клинической практике, хотя и обладает достоверным диагностическим значением.

Спустя 1-5 лет после трансплантации уровень галектина-3 был выше рассчитанного порогового значения ($\geq 16,9$ нг/мл) у 18 реципиентов, при отсутствии кризов острого отторжения трансплантата у 15 (83 %) был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Уровень галектина-3 ниже рассчитанного порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл) у 10 реципиентов при отсутствии кризов острого отторжения трансплантата, из них у 6 (60 %) был верифицирован фиброз миокарда трансплантата. Границы доверительного интервала включали единицу, следовательно, влияние концентрации галектина-3 на риск развития фиброза миокарда трансплантата, у реципиентов спустя 1-5 лет после трансплантации не было статистически значимым.

По данным, полученным в настоящей главе, диагностически значимое пороговое значение галектина-3 спустя 1-5 лет после трансплантации в отношении фиброза миокарда трансплантата составило 16,9 нг/мл. При уровне галектина-3, превышающем найденное пороговое значение, вероятность риска развития фиброза миокарда трансплантата у реципиентов сердца выше в 1,6 раза ($RR=1,6\pm 0,1$ [95% ДИ 1,2–2,0]), чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже этого порогового значения.

Факт наличия перенесенных кризов острого отторжения трансплантата является значимым в отношении развития фиброза миокарда трансплантата спустя 1-5 лет после трансплантации: при уровне галектина-3, превышающем рассчитанное пороговое значение ($\geq 16,9$ нг/мл), вероятность наличия признаков фиброза миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, выше в 1,64 раза ($RR=1,64\pm 0,1$ [95% ДИ 1,1–2,2]), чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже этого порогового значения ($\leq 16,9$ нг/мл). Уровень галектина-3 имеет диагностическое значение при фиброзе миокарда трансплантата как у реципиентов, перенесших 1-2 криза, так и у реципиентов, перенесших 3 и более кризов острого отторжения трансплантата.

ОБСУЖДЕНИЕ

Количество операций по трансплантации сердца, показатели качества и продолжительности жизни реципиентов являются индикаторами состояния медицины и уровня медицинской науки во всем мире (Yancy S.W., 2013; Мареев В.Ю., 2013).

Успешное развитие программ трансплантации солидных органов, а именно увеличение числа трансплантаций сердца стало возможным благодаря оптимизации использования донорского ресурса и ведения пациентов в периоперационном и раннем посттрансплантационном периодах, что привело к необходимости решения задач по обеспечению продолжительности выживания и улучшения качества жизни реципиентов. Совершенствование методов ведения больных в отдаленном периоде после трансплантации включает стратификацию риска развития нежелательных событий, индивидуальный подбор иммуносупрессивной терапии и сопутствующей дополнительной медикаментозной терапии (Готье С.В., 2015; Hasan R., 2017).

В клинической трансплантологии одним из активно разрабатываемых вопросов является поиск новых методов неинвазивной диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца. Актуальность подобной задачи очевидна и связана с желанием если не отказаться от многократно повторяемых инвазивных процедур – ЭМБ, то хотя бы сократить их количество, частично заменив на лабораторные исследования. Следует отметить, что ЭМБ на сегодняшний день является объективным методом верификации патологий миокарда трансплантата, но её выполнение сопряжено со всеми ограничениями и рисками, характерными для инвазивных методов исследования (Шевченко О.П., 2019).

Настоящее исследование является продолжением работ по выявлению и оценке диагностической эффективности циркулирующих биомаркеров в периферической крови реципиента сердца, связанных с развитием различных патологических процессов в трансплантированном сердце на протяжении ряда лет выполняемых в НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова (Долгов В.В., 2014; Шевченко

О.П., 2014; Шевченко О.П., 2015; Стаханова Е.А., 2016; Аксенова А.В., 2018) и активно разрабатываемых в мире (Geissler H.J., 2006; Andrikopoulou E., 2014; Roedder S., 2011; McMinn J.F., 2014).

В современной трансплантологии решение проблемы фиброза миокарда у реципиентов с пересаженным сердцем является важным шагом на пути к улучшению отдаленных результатов. Именно развившийся фиброз трансплантированного сердца является морфологической основой развития сердечной недостаточности, предопределяет дисфункцию трансплантата и отдаленные клинические результаты (Jung S.H., 2011).

В настоящее время особое внимание уделяется выявлению профиброгенных биологических агентов – биомаркеров, способных, с одной стороны, индуцировать фиброз, с другой – быть индикаторами риска негативных событий, связанных с его развитием. Наиболее изученными белками, рассматриваемыми как биологическими маркерами миокардиального баланса коллагена являются С-концевой пропептид проколлагена типа I, С-концевой телопептид коллагена типа I, матриксная металлопротеиназа и тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ (Овчинников А.Г., 2015; Savic-Radojevic A., 2017). Среди биомаркеров известных в клинической практике, потенциально значимыми, являются трансформирующий фактор роста $\beta 1$ – маркер активности фибробластов, а также N-терминальный участок мозгового натрийуретического пептида, синтез прогормона которого происходит в кардиомиоцитах и кардиальных фибробластах (Миклишанская С.В., 2017; Григорян С.В., 2018, Franekova J., 2015).

В работу нашего исследования был включен недавно описанный биомаркер хронической сердечной недостаточности – галектин-3, который играет важную роль в регуляции процессов воспаления, иммунного ответа, дегенерации нервной ткани и фиброза (Henderson N.C., 2009; Calvier L., 2013; Yin Q.Sh., 2014; Diaz-Alvarez L., 2017). При ССЗ опубликован ряд исследований, указывающих на возможность применения галектина-3 в качестве биомаркера СН (Лакомкин С.В., 2012; Максимов М.Л., 2014; Гамджян К.А., 2014; de Boer R.A., 2010; Felker G.M.,

2012; Amin H.Z; 2017). Имеются данные единичных зарубежных работ как потенциальный биомаркер, принимающий участие в развитии посттрансплантационных осложнений (Beiras-Fernandez A., 2013; Franekova J., 2015; Coromilas E., 2016; Maisel A., 2016; Saurez-Fuentetajaa N., 2018).

В связи с актуальностью и недостаточной разработанностью этого вопроса, в нашем исследовании предпринято измерение концентрации галектина-3 у потенциальных реципиентов сердца, страдающих сердечной недостаточностью III – IV функционального класса по NYHA, мониторинг концентрации галектина-3 у реципиентов в различные сроки после выполненной ортотопической трансплантации сердца, а также сопоставление концентрации галектина-3 с результатами гистологических и иммуногистохимических исследований эндомикардиальных биоптатов.

Согласно инструкции к специфическим наборам реагентов для иммуноферментного анализа, измерение концентрации галектина-3 возможно как в сыворотке, так и плазме крови пациентов. В связи с этим, в первой части настоящего исследования для исключения влияния фактора различий биоматериала выполнен сравнительный анализ содержания галектина-3 в одномоментном измерении концентрации исследуемого биомаркера в сыворотке и плазме крови. В ходе исследования не выявлено достоверных различий концентрации галектина-3 в зависимости от типа биоматериала; тем не менее, для исключения влияния фактора различий в настоящей работе сравнительный анализ концентраций галектина-3 проводили в однородном материале – плазме венозной крови пациентов, что соотносится также с результатами работ *Medvedeva E.A.* с соавт., *Coromilas E.* и соавт. (Medvedeva E.A. 2016; Coromilas E., 2016).

Было установлено, что концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов варьирует в широких пределах, что может быть связано с многофакторностью влияния на активность макрофагов, нейтрофилов, базофилов и прочих клеток, участвующих в иммунном ответе (Sharma U.C., 2004; Karlsson A., 2009). Уровень галектина-3 достоверно выше у пациентов, страдающих терминальной сердечной недостаточностью, чем у здоровых лиц, что связано с

наличием исходного заболевания – хронической сердечной недостаточности. Уровень галектина-3 у мужчин не отличался от такового у женщин, а также не зависел от возраста пациента; не выявлено различий в концентрации галектина-3 у пациентов с различной этиологией сердечной недостаточности. Все это может свидетельствовать о возможности использования галектина-3 как независимого параметра от гендерной принадлежности и диагноза до трансплантации. Подобные данные были получены также коллективом авторов *Suarez-Fuentetaja N.* и соавт. (Saurez-Fuentetajaa N., 2018).

В раннем посттрансплантационном периоде уровень галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца достоверно выше, чем до трансплантации. Это может быть обусловлено действием комплекса различных факторов, связанных с оперативным вмешательством, факторами раннего послеоперационного периода, в т.ч. системным воспалительным ответом на оперативное вмешательство; адаптацией организма реципиента к трансплантированному органу и иммуносупрессивной терапии и проч. Более того, в ходе нашего исследования выявлено, что в отдаленные сроки после трансплантации уровень галектина-3 снизился относительно уровня в ранний посттрансплантационный период.

Ранее была установлена потенциальная значимость ряда биомаркеров для диагностики посттрансплантационных осложнений у реципиентов сердца (Шевченко О.П., 2014; Шевченко О.П., 2015; Стаханова Е.А., 2016; Аксенова А.В., 2018), поэтому в настоящем исследовании оценивали корреляцию концентрации галектина-3 с уровнями следующих параметров:

- факторов роста эндотелия сосудов (VEGF-D и VEGF-A), участвующих в активации, пролиферации, миграции и дифференцировке клеток эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов;
- плацентарного фактора роста (PlGF), участвующего в регуляции роста эндотелия сосудов и инициирующий воспалительный процесс в сосудистой стенке;

- фактора роста тромбоцитов (PDGF-BB), изомеры которого участвуют в процессах репарации и заживления ран;
- хемоаттрактантного белка макрофагов (MCP-1), который принимает участие в активации и дегрануляции лейкоцитов, миелопоэзе, ангиогенезе и фиброгенезе;
- растворимой формы лиганда CD40 (sCD40L), участвующего в процессах воспаления, тромбообразования, вызывающего активацию и пролиферацию гладкомышечных клеток;
- стимулирующего фактора роста-2 (ST2), который является индикатором процессов ремоделирования миокарда.

Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов спустя год после ТС положительно коррелирует с уровнем PlGF и отрицательно – с VEGF-D и MCP-1. Полученные корреляционные связи, очевидно, не только отражают многофакторность взаимодействия организма реципиента с трансплантированным органом, но в последующем могут быть использованы при формировании комплексных тестов (мультимаркерных панелей), включающих в себя несколько биомаркеров. Предположительно именно мультимаркерные панели тестов могут улучшить качество послеоперационного мониторинга пациента, обеспечить персонализированный подход к проведению иммуносупрессивной терапии и позволит ограничить частоту инвазивных вмешательств, на что указывают результаты опубликованных к настоящему времени исследований (Wang T.J., 2010; Maisel A.S., 2012; Srinivas P., 2013; Стаханова Е.А., 2016).

Нами было установлено, что в первый месяц после трансплантации медианы концентраций галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, верифицированные по результатам ЭМБ, и без таковых, не различались, что может быть обусловлено ранним послеоперационным периодом. Однако, уровень галектина-3 в плазме крови спустя год после трансплантации сердца достоверно выше у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, чем у реципиентов без таковых. Повышение концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов может указывать на не бесследно

протекающие механизмы повреждения миокарда трансплантата, предположительно обусловленные иммунологическими процессами взаимодействия трансплантата и организма реципиента, – что подтверждено прямой зависимостью между числом перенесенных кризов острого отторжения трансплантированного сердца и уровнем галектина-3 ($r_s=0,208$; $p = 0,03$) в отдаленные сроки после трансплантации. Также выявлено, что уровень галектина-3 выше у реципиентов сердца, перенесших кризы острого отторжения трансплантата в первый год после трансплантации в отличие от отдаленных сроков: спустя 1-5 лет после трансплантации медианы концентрации галектина-3 у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата и без таковых, достоверно не различались. Следует учитывать, что в более отдаленные сроки (спустя 1-5 лет) после трансплантации повышенная концентрация галектина-3 у реципиентов, не перенесших кризы острого отторжения трансплантата, может быть обусловлена активацией процессов, связанных с развитием фибротических изменений миокарда трансплантата.

Следует отметить, что у реципиентов, находящихся в листе ожидания на трансплантацию сердца, исследование собственного сердца на предмет фибротических изменений миокарда нами не проводилось.

За время, прошедшее от раннего (1 месяц) до отдаленного периода (1-5 лет) после трансплантации у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, количество выявляемых при ЭМБ случаев фиброза миокарда возросло значительно в большей степени (на 88%), чем у реципиентов, не перенесших отторжение (на 37%). Результаты настоящего анализа подтверждают представление о влиянии эпизодов острого отторжения на развитие фибротических изменений в трансплантированном сердце. Очевидно, формированию последних способствует сопровождающее отторжение, отек, инфильтрация макрофагами и лимфоцитами, продукция активированными клетками воспаления и фибробластами провоспалительных и профиброгенных медиаторов и пр. В этом контексте следует отметить, что после перенесенных кризов гуморального отторжения, фиброз развивался почти у всех (92%)

пациентов, а после перенесенного острого клеточного отторжения – несколько реже (у 75% реципиентов). По-видимому, обнаруженные различия связаны с дополнительным негативным влиянием иммунных факторов, действующих при гуморальном отторжении на миокард трансплантата.

Однако, сами по себе данные о числе перенесенных кризов острого клеточного и/или гуморального отторжения не имеют диагностической значимости для выявления риска фиброза миокарда у реципиентов сердца в силу их низкой чувствительности.

В связи с этим, нами был проведен анализ галектина-3 у реципиентов с фибротическими изменениями миокарда трансплантата, в том числе у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения.

В ходе нашего исследования было выявлено, что повышенное содержание галектина-3 свидетельствует о наличии фибротических изменений в трансплантированном сердце, верифицированных на основании ЭМБ. Связь уровня галектина-3 у реципиентов сердца с фиброзом была подтверждена зарубежными авторами, согласно данным *Coromilas E.* и соавт. повышение уровня галектина-3 после трансплантации было связано с гипертрофией кардиомиоцитов и фиброзом миокарда трансплантата. Предположительно, высокие концентрации галектина-3 обусловлены как ранее было отмечено, иммунологическими процессами, в основе которых лежит реакция отторжения, так и субклиническим повреждением миокарда и дисфункцией трансплантата, что и было подтверждено рядом авторов (*Coromilas E., 2016; Suarez-Fuentetaja N., 2018*).

Известно, что факторы, воздействующие на организм реципиента, меняются с течением времени после трансплантации, соответственно концентрация галектина-3 может варьировать от степени тяжести патологических процессов, происходящих в организме пациента и, как следствие, меняется содержание биомаркера в крови. Важное значение имеет тот факт, что в отдаленные сроки после трансплантации у реципиентов без гистологических признаков фиброза в миокарде трансплантата уровень галектина-3 не отличался от здоровых лиц. Это

означает, что, во-первых, более высокий уровень галектина-3, в сравнении со здоровыми лицами, отражает наличие патологии трансплантата (фиброза миокарда); во-вторых, – подтверждает тот факт, что трансплантация сердца является единственным радикальным методом лечения сердечной недостаточности, выполнение которой приводит к нормализации многих показателей гомеостаза пациента, а уровень галектина-3 является одним из индикаторов этого положительного эффекта.

Выявлено, что в отдаленные сроки после трансплантации уровень галектина-3 связан с видом фиброза миокарда трансплантата: выявлены более высокие значения при сочетанной форме фиброза – диффузно-очаговой, которая является наиболее тяжелой формой, – что является еще одним подтверждением участия галектина-3 в механизмах развития фиброза.

Обнаруженные в ходе настоящего исследования различия концентрации галектина-3 у пациентов с наличием или отсутствием фибротических изменений в миокарде трансплантата по результатам ЭМБ имели место в отдаленном периоде после трансплантации сердца, но не в раннем. В связи с этим, следующим этапом исследования была оценка диагностической значимости галектина-3 в отношении фиброза миокарда в отдаленные сроки после трансплантации.

В ходе нашего исследования было установлено, что у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации уровень галектина-3 имеет диагностическое значение в отношении фиброза миокарда трансплантата: диагностически значимая пороговая концентрация галектина-3 составила 16,9 нг/мл. Спустя 1-5 лет после трансплантации при концентрации галектина-3 выше рассчитанного порогового значения (16,9 нг/мл) риск выявления фиброза миокарда трансплантата у реципиентов в 1,6 раза выше, чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже этого порогового значения.

Диагностическая значимость теста в формате настоящего исследования имела место при фиброзе миокарда трансплантата у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата. Нами было установлено, что риск развития фиброза миокарда спустя 1-5 лет после трансплантации у реципиентов,

перенесших кризы острого отторжения трансплантата, с уровнем галектина-3, превышающем найденное пороговое значение, оказался в 1,64 раза выше, чем у реципиентов, не перенесших острое отторжение трансплантата. Данные исследования послужили основанием для разработанного нами диагностического теста для реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, с высоким риском развития фибротических изменений миокарда трансплантата.

Результаты настоящей работы показали, что измерение концентрации галектина-3 в плазме крови реципиентов в различные сроки после трансплантации позволяют с одной стороны, оценивать процесс развития посттрансплантационных осложнений, с другой стороны – являться клинически значимым с точки зрения диагностики фиброза миокарда трансплантата, у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантационного сердца.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с застойной сердечной недостаточностью, ожидающих трансплантацию сердца, медиана концентрации галектина-3 в плазме крови превышает таковую у здоровых лиц ($p = 0,00$) и не зависит от возраста, гендерных различий и этиологии сердечной недостаточности.

2. В раннем посттрансплантационном периоде уровень галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца достоверно выше, но в отдаленные сроки не отличается от такового, определяемого до трансплантации ($p = 0,00$ и $p = 0,25$, соответственно).

3. Концентрация галектина-3 в плазме крови реципиентов сердца спустя год после трансплантации коррелирует с уровнем биомаркеров, потенциально значимых для диагностики посттрансплантационных осложнений: плацентарного фактора роста (PlGF, $r_s = 0,293$, $p = 0,04$), фактора роста эндотелия сосудов-D (VEGF-D, $r_s = -0,511$, $p = 0,00$) и хемоаттрактантного белка макрофагов (MCP-1, $r_s = -0,285$, $p = 0,05$).

4. Уровень галектина-3 в плазме крови в отдаленные сроки после трансплантации сердца достоверно выше у реципиентов, перенесших острое отторжение трансплантата; имеет место прямая зависимость между числом перенесенных кризов отторжения и уровнем галектина-3 ($r_s=0,208$; $p = 0,03$ спустя год после трансплантации).

5. В отдаленные сроки после трансплантации возрастает число реципиентов сердца с верифицированным при эндомикардиальной биопсии фиброзом миокарда: у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения – на 88%, у реципиентов без кризов отторжения – на 37%, в сравнении с ранним посттрансплантационным периодом. У реципиентов, перенесших острое гуморальное отторжение, фиброз миокарда трансплантата выявляется чаще (92% случаев), чем у реципиентов, перенесших острое клеточное отторжение (75%).

6. В отдаленные сроки уровень галектина-3 в плазме крови выше у реципиентов с фиброзом миокарда трансплантата ($p = 0,05$ спустя год и $p = 0,01$ спустя 1-5 лет после трансплантации). Спустя год после трансплантации

содержание галектина-3 достоверно выше у реципиентов с диффузно-очаговым фиброзом ($p = 0,01$), чем у реципиентов без такового; спустя 1-5 лет – у реципиентов с диффузно-очаговым ($p = 0,00$), очаговым ($p = 0,00$) и диффузным ($p = 0,01$) фиброзом.

7. Диагностически значимая пороговая концентрация галектина-3 в отношении фиброза миокарда трансплантированного сердца спустя 1-5 лет после трансплантации составляет 16,9 нг/мл. У реципиентов, перенесших кризы острого отторжения, при уровне, превышающем рассчитанное пороговое значение, риск развития фиброза миокарда трансплантата выше ($RR=1,64\pm 0,1$ [95% ДИ 1,1–2,2], чувствительность 71%, специфичность 75%), чем у реципиентов с уровнем галектина-3 ниже порогового значения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Контроль уровня галектина-3 может быть использован для выявления пациентов с наличием фибротических изменений миокарда трансплантированного сердца.

Измерение в плазме венозной крови уровня галектина-3 в отдаленные сроки после трансплантации сердца у реципиентов, перенесших кризы острого отторжения трансплантата, позволяет выявить пациентов с повышенной вероятностью наличия признаков фиброза в миокарде трансплантата.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДКМП	Дилатационная кардиомиопатия
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ИФА	Иммуноферментный анализ
КГ	Коронароангиография
СН	Сердечная недостаточность
ССЗ	Сердечно-сосудистые заболевания
ОКО	Острое клеточное отторжение
ОФК	Объемная фракция коллагена
ТС	Трансплантация сердца
ХСН	Хроническая сердечная недостаточность
ЭМБ	Эндомиокардиальная биопсия
РААС	Ренин-ангиотензин-альдостероновая система
AMR	Гуморальное (антителоопосредованное) отторжение
ISHLT	(англ., International society for heart and lung transplantation) Международное общество трансплантации сердца и легких
PDGF-BB	Фактор роста тромбоцитов
PlGF-1	Плацентарный фактор роста - 1
RR	Относительный риск
sCD40L	Растворимая форма лиганда CD40
ST2	Стимулирующий фактор роста-2
VEGF-A	Факторы роста эндотелия сосудов - А
MCP-1	Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Аксенова, А. В.** Диагностическое значение биомаркеров острого отторжения трансплантированного сердца / А. В. Аксенова, О. П. Шевченко. – Текст непосредственный // Трансплантология: итоги и перспективы. Том IX. 2017 год / под редакцией С. В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада» (2018), С. 202-219. – ISBN 978-5-94789-839-2.
2. **Анкудинов, А. С.** Галектин-3 и предсердный натрийуретический пептид: диагностические и прогностические возможности у больных, страдающих хронической сердечной недостаточностью и остеоартрозом коленных суставов / А. С. Анкудинов, А. Н. Калягин, О. В. Колбасеева. – Текст: непосредственный // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – № 5. – С. 43-46. – Библиогр.: с. 46 (13 назв.).
3. **Ахмедова, Д. М.** Значение объемной фракции коллагена в развитии ремоделирования миокарда у больных с воспалительной кардиомиопатией / Д. М. Ахмедова, Б. Г. Ходжакулиев. – Текст : непосредственный // Евразийский кардиологический журнал. – 2014. – № 1. – С. 109-112. – Библиогр.: с. 112 (10 назв.).
4. **Бойцов, С. А.** Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации и возможные механизмы ее изменения / С. А. Бойцов, С. А. Шальнова, А. Д. Деев. – Текст : непосредственный // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2018. – Т. 118, № 8. – С. 98-103. – Библиогр.: с. 103 (15 назв.).
5. **Возможности использования галектина-3 в лабораторной диагностике / О. А. Васильева, В. Д. Якушина, Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий.** – Текст: непосредственный // Научно-практический журнал «Клинико-лабораторный консилиум». – 2011. – № 2. – С. 12-16. – Библиогр.: с. 12-17 (60 назв.).
6. **Галектин-3 – новый биомаркер хронической сердечной недостаточности / М. Л. Максимов, К. А. Гямджян, В. Г. Кукес, О. А. Горошко.** –

Текст: непосредственный // Лечебное дело. – 2014. – № 2. – С. 49-54. – Библиогр.: с. 20-21 (назв. 27).

7. Галектин-3 – новый маркер диагностики и прогноза хронической сердечной недостаточности / С. В. Лакомкин, А. А. Скворцов, Т. В. Горюнова [и др.]. – Текст: непосредственный // Кардиология. – 2012. – № 3. – С. 45-52. – Библиогр.: с. 20 (27 назв.).

8. Галектин-3 при отторжении и фиброзе трансплантированного сердца / О.П. Шевченко, А.А. Улыбышева, О.Е. Гичкун [и др.] – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. XXI. – № 3. – С.145-150. – Библиогр.: с. 148-149 (назв. 10).

9. Галектин-3 у реципиентов сердца / А. А. Улыбышева, О. П. Шевченко, О. Е. Гичкун, А. О. Шевченко. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. XXI. – № 2. – С.145-150. – Библиогр.: с. 148-149 (назв. 35).

10. **Гамджян, К. А.** Галектин-3: клиническая и прогностическая ценность определения у пациентов с ХСН / К. А. Гамджян, О. М. Драпкина, М Л. Максимов. – Текст: непосредственный // Сердечная недостаточность. – 2014. – № 1. – С. 51-55. – Библиогр.: с. 55 (32 назв.).

11. **Гамджян, К. А.** Роль галектина-3 в диагностики и контроле за лечением пациентов с хронической сердечной недостаточностью, сопоставление с NT-proBNP: специальность 14.03.06 «фармакология, клиническая фармакология»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Гамджян Карине Арменовна; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2017 – с. 24 – Текст: непосредственный.

12. **Готье, С. В.** Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2015 году (VIII сообщение регистра Российского трансплантологического общества) / С. В. Готье, С. М. Хомяков // Трансплантология: итоги и перспективы. Том VII. 2015 год / Под ред. С. В. Готье.

– М.– Тверь – ООО «Издательство «Триада» (2016). – С. 37-72. – ISBN 978-5-94789-732-6.

13. **Готье, С.В.** Пациент с трансплантированным сердцем. Руководство для врачей по ведению пациентов, перенесших трансплантацию сердца / С. В. Готье, А. О. Шевченко, В. Н. Попцов. – М. – Тверь, 2014. – ООО «Издательство «Триада». – 144 с. – Библиогр.: 136-143 (120 назв.). – ISBN 978-5-94789-648-0. – Текст: непосредственный.

14. **Григорьев, С. Г.** Роль и место логистической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач / С. Г. Григорьев, Ю. В. Лобзин, Н. В. Скрипченко. – Текст: непосредственный // Журнал инфектологии. – 2016. – Том 8. – №4. – С. 36-45. – Библиогр.: с. 44 (9 назв.).

15. **Григорян, С. В.** Миокардиальный фиброз и фибрилляция предсердий / С. В. Григорян, Л. Г. Азарпетян, К. Г. Адамян. – Текст: непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2018. – 23(9): С. 71-76. – Библиогр.: с. 75-76 (назв. 48).

16. **Деева, Т. А.** Клиническое значение неинвазивных маркеров фиброза у пациентов с метаболическим синдромом: специальность 14.01.04 «внутренние болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Деева Татьяна Андреевна; Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова. – Москва, 2012. – 26 с. – Текст: непосредственный.

17. Диагностическая значимость биологических маркеров при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка / Е. В. Базаева, Р. П. Мясников, В. А. Метельская, С. А. Бойцов – Текст: непосредственный // Журнал сердечная недостаточность. – 2015. – Т. 16. – № 1 (88). – С. 43-51.

18. Диагностическая значимость иммунологических маркеров у больных воспалительной кардиомиопатией / С. Н. Терещенко, А. А. Скворцов, А. Ю. Щедрина и др. – Текст : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 2. – С. 22-29. – Библиогр.: с. 28-29 (28 назв.).

19. Диагностическое значение тромбоцитарного фактора роста PDGF-BB и ST2 при отторжении трансплантированного сердца / О. П. Шевченко, А. А. Улыбышева, А. В. Аксенова [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – № 4. – С. 71-76. – Библиогр.: с. 75-76 (назв. 14).

20. **Долгов, В. В.** Биомаркеры в лабораторной диагностике / В. В. Долгов, О. П. Шевченко, А. О. Шевченко. – Текст: непосредственный. – М. Тверь: ООО «Издательство «Триада» (2014). – 288 с. – ISBN 978-5-94789-596-4.

21. **Драпкина, О. М.** Фиброз и фибрилляция предсердий – механизмы и лечение / О. М. Драпкина, А. В. Емельянов. – Текст: непосредственный // Артериальная гипертензия. – 2013. – № 19. – С. 487–494. – Библиогр.: с. 493-494 (назв. 20).

22. **Драпкина, О. М.** Характеристики пульсовой волны у пациентов с артериальной гипертензией и сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса / О. М. Драпкина, Ю. В. Дуболазова. – Текст: непосредственный // Российские Медицинские Вести. – 2012. – № 4. С. – 20-31. – Библиогр.: с. 29-30 (назв. 41).

23. **Зборовская, И. Б.** Белки мембранных микродоменов и их участие в онкогенезе / И. Б. Зборовская, С. А. Галецкий, А. В. Комельков. – Текст: непосредственный // Успехи молекулярной онкологии. – 2016. – № 3. – С.16-29. – Библиогр.: с. 26-29 (назв. 110).

24. **Ионин, В. А.** Роль маркеров фиброза в стратификации риска фибрилляции предсердий у пациентов с метаболическим синдромом / В. А. Ионин, Е. И. Баранова. – Текст: непосредственный // Трансляционная медицина. – 2016. – № 3. – С. 17–25. – Библиогр.: с. 24-25 (назв. 11).

25. **Метельская, А. В.** Атеросклероз : мультимаркерные диагностические панели / В. А. Метельская. – Текст : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2018. – № 8. – С. 65-72. – Библиогр.: с. 71-72 (42 назв.).

26. **Миклишанская, С. В.** Механизмы формирования миокардиального фиброза в норме и при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. Методы его диагностики / С. В. Миклишанская, Н. А. Мазур, Н. В. Шестакова. – Текст: непосредственный // Медицинский совет. – 2017. – № 12. – С. 75-81. – Библиогр.: с. 81 (назв. 27).

27. Молекулярные механизмы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата / О. П. Шевченко, Б. Л. Миронков, А. О. Шевченко [и др.]. // Трансплантология: итоги и перспективы. Том V. 2013 год / Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь, 2014. – ООО «Издательство «Триада». – С. 76-88. – ISBN 978-5-94789-649-7.

28. Мультиплексный анализ биомаркеров неоангиогенеза и воспаления у реципиентов сердца / О. П. Шевченко, Е. А. Стаханова, О. Е. Гичкун [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII. – №1. – С. 12-17. – Библиогр.: с. 16-17 (назв. 13).

29. **Насырова, А. А.** Функциональные показатели магистральных артерий и риск отторжения трансплантированного сердца / Насырова А.А., Шевченко А.О. // Трансплантология: итоги и перспективы. Том VII. 2015 год / Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада» (2016), С. 422-442. – ISBN 978-5-94789-732-6.

30. Натрийуретические пептиды и галектин-3 у пациентов старческого возраста с хронической сердечной недостаточностью с сохранением фракцией выброса / Л. И. Малинова, Р. А. Подболотов, Т. В. Поварова, Г. Ф. Плетнева – Текст: непосредственный // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2015. – № 1. – С. 41-46. – Библиогр.: с. 45-46 (назв. 24).

31. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр) / В. Ю. Мареев, Ф. Т. Агеев, Г. П. Арутюнов [и др.]. – Текст: непосредственный // Сердечная недостаточность. – 2013. – № 14 (17). –С. 379-472. – Библиогр.: с. 457-472 (назв. 571).

32. **Овчинников, А. Г.** Фиброз левого желудочка: патогенез, диагностика, лечение / А. Г. Овчинников, М. В. Ожерельева, Ф. Т. Агеев. – Текст :

непосредственный // Неотложная Кардиология. – 2015. – № 4. – С. 11-26. – Библиогр.: с. 21-26 (116 назв.).

33. Отторжение сердечного трансплантата и неинвазивные показатели функционального состояния стенки общей сонной артерии / А. О. Шевченко, И. Ю. Тюняева, А. А. Насырова [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII. – № 1. – С. 5-11. – Библиогр.: с. 10-11 (назв. 11).

34. Оценка качества жизни пациентов с трансплантированным сердцем / А. О. Шевченко, Т. А. Халилулин, Б. Л. Миронков [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Том XVI. – № 4. – С. 11-16. – Библиогр.: с. 16 (назв. 11).

35. Патоморфологические признаки повреждения миокарда при отторжении трансплантированного сердца / А. А. Веревкин, А. А. Славинский, Е. Д. Космачева, Т. В. Ставенчук. – Текст : непосредственный // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – Т. 24, № 6. – С. 17-21. – Библиогр.: с. 21 (11 назв.).

36. Перспективы улучшения отдаленных результатов трансплантации сердца / С. В. Готье, А. О. Шевченко, А. Я. Кормер [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Том XVI. – № 3. – С. 23-30. – Библиогр.: с. 29-30 (назв. 23).

37. Прогностическое значение уровня галектина-3 при остром коронарном синдроме в условиях реальной клинической практики / Л. И. Малинова, Р. А. Подболотов, Т. П. Денисова, П. Я. Довгалевский. – Текст: непосредственный // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2015. – № 14 (5). – С. 273–280. – Библиогр.: с. 280 (назв. 21).

38. Роль трансформирующего фактора роста-бета1 и галектина-3 в формировании фиброза левого предсердия у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий и метаболическим синдромом / Е. Л. Заславская, А. Н. Морозов, В. А. Ионин [и др.]. – Текст: непосредственный //

Российский кардиологический журнал. – 2018. – 2(154): С. 60-66. – Библиогр.: с. 66 (назв. 22).

39. Сравнительный анализ диагностической значимости панелей биомаркеров у реципиентов сердца в отдаленные сроки после трансплантации / О. П. Шевченко, А. В. Аксенова, А. А. Улыбышева [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – № 2. – С. 27-33. – Библиогр.: с. 33 (назв. 17).

40. Статистические методы анализа в клинической практике / П. О. Румянцев, В. А. Саенко, У. В. Румянцева, С. Ю. Чекин. – Текст: непосредственный // – 2009. – № 6. – С. 48-56. – Библиогр.: с. 56 (назв. 11).

41. **Стаханова, Е. А.** Роль мультиплексного анализа биомаркеров неоангиогенеза и воспаления при трансплантации сердца / Стаханова Е.А., Шевченко О.П. // Трансплантология: итоги и перспективы. Том VII. 2015 год. / Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада» (2016), С. 422-442. – ISBN 978-5-94789-732-6.

42. Трансплантация сердца. Руководство для врачей / Под ред. С.В. Готье, А.О. Шевченко, В.Н. Попцов // М.– Тверь, 2014. – ООО «Издательство «Триада». – 136 с. – ISBN 978-5-94789-650-3. – Текст: непосредственный.

43. Три десятилетия трансплантации сердца в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова: отдаленные результаты / С. В. Готье, А. О. Шевченко, А. Я. Кормер [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII. – № 2. – С. 70-73.

44. **Файнзильберг, Л. С.** Гарантированная оценка эффективности диагностических тестов на основе усиленного ROC-анализа / Л. С. Файнзильберг, Т. Н. Жук – Текст: непосредственный // Управляющие системы и машины. – 2009. – № 5. – С. 3-13. – Библиогр.: с. 12-13 (назв. 31).

45. Факторы роста эндотелия сосудов при отторжении трансплантированного сердца / О. П. Шевченко, Е. А. Стаханова, А. О. Шевченко [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII. – №2. – С. 23-29. – Библиогр.: с. 28-29 (назв. 15).

46. Фиброз миокарда: современные аспекты проблемы / В. Н. Каретникова, В. В. Кашталап, С. Н. Косарева, О. Л. Барбараш. – Текст: непосредственный // Терапевтический архив (архив до 2018 г.). – 2017. – 89(1): С. 88-93. – Библиогр.: с. 91-93 (назв. 69).

47. **Целуйко, В. Й.** Динамика изменения уровня галектина-3 у больных с хронической сердечной недостаточностью при шестимесячном наблюдении / В. Й. Целуйко, Н. В. Матвийчук, К. Ю. Киношенко. – Текст: непосредственный // Международный медицинский журнал. – 2013. – № 2. – С. 35-39. – Библиогр.: с. 73-74 (назв. 17).

48. **Чазов, Е. И.** Хроническая ишемическая болезнь сердца / Е. И. Чазов, Ю. А. Карпов. – Текст : непосредственный // Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний : 2-е издание, исправленное и дополненное / под редакцией Чазова Е. И., Карпова Ю. А. – Москва : Литтерра, 2015. – С. 302-320.

49. **Шевченко О. П.** Мультимаркерный (мультиплексный) анализ – инструмент персонифицированной медицины / О. П. Шевченко, Е. А. Стаханова. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII. – № 2. – С. 90-92.

50. **Юнкеров, В. И.** Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев, М.В. Резванцев. – 3-е изд., доп. – СПб.: ВМедА, 2011.– 318 с. – ISBN 5-94277-011-5. – Текст: непосредственный.

51. ST2 при отторжении трансплантированного сердца / О. П. Шевченко, А. А. Улыбышева, Д. А. Великий, А. О. Шевченко. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2015. – Том XVII. – № 4. – С. 90-94. – Библиогр.: с. 93-94 (назв. 38).

52. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology Foundation / C. W. Yancy, M. Jessup, B. Bozkurt [et al.]. – Текст: непосредственный // American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. – 2013. – 128: 240-327. – Библиогр.: с. 299-319 (назв. 924).

53. A multi-biomarker risk score improves prediction of long-term mortality in patients with advanced heart failure / B. Richter, L. Koller, P. J. Hohensinner [et al.]. – Текст: непосредственный // *International Journal of Cardiology*. – 2013. – Vol. 168. – P. 1251-1257. – Библиогр.: с. 1256-1257 (назв. 33).

54. A novel cardiac bio-marker: ST2: A review / M. M. Ciccone, F. Cortese, M. Gesualdo [et al.]. – Текст: непосредственный // *Molecules*. – 2013. – 18: 15314-15328. – Библиогр.: с. 15323-15328 (назв. 62).

55. Advanced therapies for end-stage heart failure / J. N. Katz, S. B. Waters, I. B. Hollis [et al.]. – Текст: непосредственный // *Current Cardiology Reviews*. – 2015. – Vol. 11 (1). – P. 63-72. – Библиогр.: с. 71-72 (назв. 56).

56. **Amin, H. Z.** Galectin-3: a novel biomarker for the prognosis of heart failure / H. Z. Amin, L. Z. Amin, I. P. Wijaya. – Текст: непосредственный // *Clujul Medical* – 2017. – Vol. 90. – № 2. – P. 129-132. – Библиогр.: с. 131-132 (назв. 33).

57. An antiapoptotic role for galectin-3 in diffuse large B-cell lymphomas / K. K. Hoyer, M. Pang, D. Gui [et al.]. – Текст: непосредственный // *American Journal of Pathology*. – 2004. – 164: 893-902. – Библиогр.: с. 900-902 (назв. 72).

58. An evaluation of multiplex bead-based analysis of cytokines and soluble proteins in archived lithium heparin plasma, EDTA plasma and serum samples / L. Brøndum, B. S. Sørensen, J. G. Eriksen [et al.]. – Текст: непосредственный // *Scandinavian Journal Of Clinical And Laboratory Investigation*. – 2016 – Vol. 76 (8). – P. 601-611. – Библиогр.: с. 610-611 (назв. 42).

59. **Andrikopoulou, E.** Current insights: use of immuknow in heart transplant recipients / E. Andrikopoulou, P. J. Mather. – Текст: непосредственный // *Progress in Transplantation*. – 2014. – Vol. 24. – Iss. 1. – P. 44-50. – Библиогр.: с. 50 (назв. 29).

60. Baseline levels and temporal stability of 27 multiplexed serum cytokine concentrations in healthy subjects / A. Biancotto, A. Wank, S. Perl [et al.]. – Текст: электронный // PLoS One. – 2013. – 8(12): e76091. – DOI: 10.1371/journal.pone.0076091 (дата обращения: 07.11.2018).

61. **Bayliss, J.** Late onset antibody-mediated rejection and endothelial localization of vascular endothelial growth factor are associated with development of cardiac allograft vasculopathy / J. Bayliss, M. Bailey, A. Leet [et al.]. – Текст: непосредственный // Transplantation. – 2008. – Vol. 86. – P. 991–997. – Библиогр.: с. 996-997 (назв. 37).

62. **Binas, D.** The prognostic value of sST2 and galectin-3 considering different aetiologies in non-ischaemic heart failure / D. Binas, H. Daniel, A. Richter [et al.]. – Текст: электронный // Open Heart – 2018. – Vol. 5. – DOI: 10.1136/openhrt-2017-000750 (дата обращения: 17.01.2019).

63. Biomarker predictors of cardiac hospitalization in chronic heart failure: a recurrent event analysis / E. Vorovich; B. French; B. Ky [et al.]. – Текст: непосредственный // Journal of Cardiac Failure. – 2014. – 20 (8): 569-576. – Библиогр.: с. 575-576 (назв. 34).

64. Biomarkers in solid organ transplantation: establishing personalized transplantation medicine / S. Roedder, M. Vitalone, P. Khatri, M. M. Sarwal – Текст: непосредственный // Genome Medicine. – 2011. – Vol. 3. – P. 37. – Библиогр.: с. 34-37 (назв. 100).

65. Biomarkers of acute rejection following cardiac transplantation / J. F. McMin, N. N. Lang, A. McPhadden [et al.]. – Текст: непосредственный // Biomarkers in Medicine. – 2014. – 8 (6). – P.815-832. – Библиогр.: с. 828-832 (назв. 134).

66. **Breen, E. J.** Bead-based multiplex immune-assays for cytokines, chemokines, growth factors and other analytes: median fluorescence intensities versus their derived absolute concentration values for statistical analysis / E. J. Breen, V. Polaskova, A. Khan. – Текст: непосредственный // Cytokine. – 2015. – Vol. 71. – № 2. – P. 188-198. – Библиогр.: с. 198 (назв. 26).

67. Circulating galectin-3 levels are persistently elevated after heart transplantation and are associated with renal dysfunction / A. Grupper, J. Nativi-Nativi, J. J. Maleszewski [et al.]. – Текст: непосредственный // JACC: Heart Failure. – 2016. – 4: 847-856. – Библиогр.: с. 855-856 (назв. 39).

68. Circulating miRNAs might be promising biomarkers to reflect the dynamic pathological changes in smoking-related interstitial fibrosis / H. Yuchuan, D. Ya, Z. Jie [et al.]. – Текст : непосредственный // Toxicology and Industrial Health. – 2012. – Vol. 30. – Iss. 2. – P. 182–191. – Библиогр.: с. 190-191 (23 назв.).

69. Comparative study of galectin-3 and B-type natriuretic peptide as biomarkers for the diagnosis of heart failure / Q.-Sh. Yin, B. Shi, L. Dong, L. Bi. – Текст : непосредственный // The Journal of Geriatric Cardiology. – 2014. – Vol. 11. – Iss. 1. – P. 79-82. – Библиогр.: с. 82 (12 назв.).

70. **de Boer, R. A.** Galectin-3 in cardiac remodeling and heart failure / R. A. de Boer, L. Yu, D. J.van Veldhuisen – Текст: непосредственный // Curr Heart Fail. – 2010. –7:1–8. – Библиогр.: с. 7-8 (назв. 47).

71. Diagnostic performance of a novel multiplex immunoassay in colorectal cancer / K. Dressen, N. Hermann , S. Manekeller [et al.]. – Текст: непосредственный // Anticancer Research. .– 2017. – 37(5): 2477-2486. – Библиогр.: с. 2485-2486 (назв. 54).

72. **Díaz-Alvarez, L.** The many roles of galectin-3, a multifaceted molecule, in innate immune responses against pathogens / L. Díaz-Alvarez, E. Ortega. – Текст: электронный // Mediators of Inflammation – 2017. – DOI: 10.1155/2017/9247574 (дата обращения: 17.08.2018).

73. **Dumic, J.** Galectin-3: an open-ended story / J. Dumic, S. Dabelic, M. Flogel. – Текст: непосредственный // Biochimica et Biophysica Acta. – 2006. – 1760: 616-635. – Библиогр.: с. 629-635 (назв. 237).

74. Dynamics and prognostic role of galectin-3 in patients with advanced heart failure, during left ventricular assist device support and following heart transplantation / E. Coromilas, E. Que-Xu, D. Moore [et al.]. – Текст: непосредственный // BMC Cardiovasc Disord. – 2016. – 16: 138-148. – Библиогр.: с. 147-149 (назв. 31).

75. Effects of left ventricular assist device support on biomarkers of cardiovascular stress, fibrosis, fluid homeostasis, inflammation, and renal injury / T. Ahmad, T. Wang, E. C. O'Brien [et al.]. – Текст: непосредственный // *J Am Coll Cardiol HF*. – 2015. – 3:30–39. – Библиогр.: с. 38-39 (назв. 39).

76. Elevated galectin-3 precedes the development of CKD / C. M. O'Seaghdha, S. J. Hwang, J. E. Ho [et al.]. – Текст: непосредственный // *J Am Soc Nephrol*. – 2013. – 24: 1470–1477. – Библиогр.: с. 1475-1477 (назв. 70).

77. ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research / S. X. Leng, J. E. McElhaney, J. D. Walston [et al.]. – Текст: непосредственный // *Journals of Gerontology A: Biological Science and Medical Sciences*. – 2008. – Vol. 63. – №8. – P. 879-884. – Библиогр.: с. 884 (назв. 25).

78. First year changes of myocardial lymphatic endothelial markers in heart transplant recipients / H. J. Geissler, A. Dashkevich, U. M. Fischer [et al.]. – Текст: непосредственный // *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. – 2006. – Vol. 29. – №5. – P. 767-771. – Библиогр.: с. 770-771(назв. 16).

79. **Frangogiannis, N. G.** Biomarkers: hopes and challenges in the path from discovery to clinical practice / N. G. Frangogiannis. – Текст: непосредственный // *Translational Research*. – 2012. – Vol. 159. – №4. – P. 197-204. – Библиогр.: с. 203-204 (назв. 46).

80. Galectin-3 and mineralocorticoid receptor antagonist use in patients with chronic heart failure due to left ventricular systolic dysfunction / P. U. Gandhi, S. R. Motiwala, A. M. Belcher [et al.]. – Текст: непосредственный // *American Heart Journal*. – 2015. – 169(3). – 404–411.e3. – Библиогр.: с. 411 (назв. 24).

81. Galectin-3 functions as an opsonin and enhances the macrophage clearance of apoptotic neutrophils / A. Karlsson, K. Christenson, M. Matlak et al. – Текст: непосредственный // *Glycobiology*. – 2009. – № 1. – p.16-20. – Библиогр.: с. 20 (назв. 19).

82. Galectin-3 in ambulatory patients with heart failure: results from the HF-ACTION study / G.M. Felker, M. Fiuzat, L.K. Shaw [et al.]. – Текст:

непосредственный // *Circ Heart Fail.* – 2012. – 5: 72–78. – Библиогр.: с. 78 (назв. 14).

83. Galectin-3 in patients with chronic heart failure: association with oxidative stress, inflammation, renal dysfunction and prognosis / E. A. Medvedeva, I. I. Berezin, E. A. Surkova [et al.]. – Текст : непосредственный // *Minerva Cardioangiologica.* – 2016. – Vol. 64. – Iss. 6. – P. 595-602. – Библиогр.: с. 601-602 (32 назв.).

84. Galectin-3 in renal pathology: more than just an innocent bystander / V. Desmedt, S. Desmedt, J. R. Delanghe [et al.]. – Текст: непосредственный // *Am J Nephrol.* – 2016. – 43:305–317. – Библиогр.: с. 315-317 (назв. 91).

85. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction / U. C. Sharma, S. Pokharel, T. J. van Brakel [et al.]. – Текст: непосредственный // *Circulation.* – 2004. – 110: 3121–3128. – Библиогр.: с. 3128 (назв. 27).

86. Galectin-3 mediates aldosterone-induced vascular fibrosis / L. Calvier, M. Miana, P. Reboul [et al.]. – Текст: непосредственный // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2013. – 33(1). – 67–75. – Библиогр.: с. 75 (назв. 45).

87. **Hasan, R.** Innovations in cardiac transplantation / R. Hasan, A. A. El Ela, D. Goldstein. – Текст: непосредственный // *Curr Opin Cardiol.* – 2017. – 32:336–342. – Библиогр.: с. 342 (назв. 44).

88. **Henderson, N. C.** The regulation of inflammation by galectin-3 / N. C. Henderson, T. Sethi. – Текст: непосредственный // *Immunol Rev.* – 2009. – 230:160–171. – Библиогр.: с. 170-171 (назв. 85).

89. **Hullin, R.** Heart transplantation: current practice and outlook to the future / R. Hullin – Текст: электронный // *Swiss Medical Weekly.* – 2014. – Vol. 144. – P. w13977. – DOI: 10.4414/smw.2014.13977 (дата обращения 15.04.2017).

90. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis / S. Kaptoge, S. R. K. Seshasai, P. Gao [et al.]. – Текст: электронный // *European Heart Journal.* – 2013. doi:10.1093/eurheartj/eh367. – DOI: 10.1093/eurheartj/eh367 (дата обращения 19.04.2017).

91. Interleukin receptor family member ST2 concentrations in patients following heart transplantation / J. L. Januzzi, B. D. Horne, S. A. Moore [et al.]. – Текст : непосредственный // Biomarkers. – 2013. – Vol. 18. – Iss. 3. – P. 250–256. – Библиогр.: с. 256 (21 назв.).
92. **Kennel, P. J.** Novel biomarker approaches for managing patients with cardiac transplantation / P.J. Kennel, P.C. Schulze. – Текст: непосредственный // Current Heart Failure Reports. – 2015. – 12(5):328-332. – Библиогр.: с. 331-332 (назв. 35).
93. **Kittleson, M. M.** Changing role of heart transplantation / M. M. Kittleson. – Текст: непосредственный // Heart Failure Clinics. – 2016. – Vol. 12 (3). – P. 411-421. – Библиогр.: с. 420-421 (назв. 27).
94. **Клос, М.** Chronic allograft rejection: a significant hurdle to transplant success / М. Клос, R. M. Ghobrial. – Текст: непосредственный // Burns & Trauma. – 2014. – Vol. 2. – №1. – P. 3-10. – Библиогр.: с. 9-10 (назв. 60).
95. **Labarrere, C.A.** Biomarkers of heart transplant rejection: the good, the bad, and the ugly! / C. A. Labarrere, B. R. Jaeger. – Текст: непосредственный // Transplantational Research. – 2012. – Vol.159. – №4. – P.238-251. – Библиогр.: с. 247-251 (назв. 124).
96. Local expression of myocardial galectin-3 does not correlate with its serum levels in patients undergoing heart transplantation / A. Beiras-Ferdnandez, F. Weis, J. Rothkopf [et al.]. – Текст : непосредственный // Annals of Transplantation. – 2013. – Vol. 18. – P. 643-650. – Библиогр.: с. 649-650 (24 назв.).
97. Long-term biological variability of galectin-3 after heart transplantation / J. Franekova, Z. Kubicek, L. Hoskova [et al.]. – Текст: непосредственный // Clin Chem Lab Med. – 2015. – 1: 119-123. – Библиогр.: с. 123 (назв. 16).
98. Long-term mortality in adult orthotopic heart transplant recipients / S. H. Jung, J. J. Kim, S. J. Choo [et al.]. – Текст: непосредственный // Journal of Korean Medical Science. – 2011. – Vol. 26. – № 5. – P. 599-603. – Библиогр.: с. 602-603 (назв. 16).

99. **Maisel, A.** Galectin-3 After Heart Transplantation. Does it Get Better? / A. Maisel, P. Kim, W. Stendardi. – Текст: непосредственный // JACC: Heart Failure – 2016. – Vol. 4. – № 11. – P. 857–859. – Библиогр.: с. 858-859 (назв. 29).

100. **Maisel, A. S.** Biomarkers in acute heart failure – state of the art / A. S. Maisel, R. Choudhary. – Текст: непосредственный // Nat Rev Cardiol. – 2012. – 9:478–490. – Библиогр.: с. 488-490 (назв. 129).

101. **Meijers, W. C.** ST2 and galectin-3: ready for prime time? / W. C. Meijers, A. R. van der Velde, R. A. de Boer. – Текст: непосредственный // EJIFCC. – 2016. – 3: 238-252. – Библиогр.: с. 249-252 (назв. 81).

102. MicroRNA-101 attenuates pulmonary fibrosis by inhibiting fibroblast proliferation and activation / C. Huang, X. Xiao, Y. Yang [et al.]. – Текст : электронный // Journal of Biological Chemistry. – 2017. – Vol. 292. – Iss. 40. – P. 16420-16439. – URL: <http://www.jbc.org/content/292/40/16420.long> (дата обращения: 03.03.2019).

103. MicroRNA-142 is a multifaceted regulator in organogenesis, homeostasis, and disease / A. Shrestha, R. T. Mukhametshina, S. Taghizadeh [et al.]. – Текст : непосредственный // Developmental Dynamics. – 2017. – Vol. 246. – Iss. 4. – P. 285–290. – Библиогр.: с. 289-290 (38 назв.).

104. MicroRNAs: potential biomarker in organ transplantation / J. Shan, L. Feng, L. Luo [et al.]. – Текст : непосредственный // Transplant Immunology. – 2011. – Vol. 24. – Iss. 4. – P. 210–215. – Библиогр.: с. 214-215 (67 назв.).

105. **Mueller, T.** Soluble ST2 and galectin-3: what we know and don't know analytically / T. Mueller, B. Dieplinger. – Текст: непосредственный // Electronic journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – 2016. – Vol. 27. – № 3. – P. 224–237. – Библиогр.: с. 236-237 (назв. 31).

106. Multicenter analysis of immune biomarkers and heart transplant outcomes: results of the clinical trials in organ transplantation-05 study / R. C. Starling, J. Stehlik, D. A. Baran [et al.]. – Текст: непосредственный // American Journal of Transplantation. – 2016. – Vol.16. – P. 121-136. – Библиогр.: с. 131-136 (назв. 85).

107. Multiple biomarkers and risk of clinical and subclinical vascular brain injury: the Framingham Offspring Study / A. Pikula, A. S. Beiser, C. DeCarli [et al.]. – Текст: непосредственный // *Circulation*. – 2012. – Vol. 125. – P. 2100-2107. – Библиогр.: с. 2106-2107 (назв. 43).

108. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death / T. J. Wang, P. Gona, M. G. Larson [et al.]. – Текст: непосредственный // *The New England Journal of Medicine*. – 2006. – Vol. 355. – № 25. – P. 2631-2639. – Библиогр.: с. 2638-2639 (назв. 40).

109. Myocardial fibrosis and pro-fibrotic markers in end-stage heart failure patients during continuous-flow left ventricular assist device support / S. I. Lok, F. M. Nours, J. van Kuik [et al.]. – Текст: непосредственный // *Eur J Cardiothorac Surg*. – 2015. – 48:407–15. – Библиогр.: с. 414-415 (назв. 25).

110. Novel biomarkers of heart failure / A. Savic-Radojevic; M. Pljesa-Ercegovac; M. Matic [et al.]. – Текст: непосредственный // *Advances In Clinical Chemistry*. – 2017. – Vol. 79. – P 93-152. – Библиогр.: с. 148-152 (назв. 111).

111. Panel of emerging cardiac biomarkers contributes for prognosis rather than diagnosis in chronic heart failure / C. G. Jungbauer, J. Riedlinger, D. Block [et al.]. – Текст: непосредственный // *Biomarkers in Medicine*. – 2014. – Vol. 8. – №6. – P. 777-789. – Библиогр.: с. 788-789 (назв. 32).

112. **Patel, J. K.** Thoracic organ transplantation: Laboratory methods / J. K. Patel, J. A. Kobashigawa. – Текст: непосредственный // *Methods in Molecular Biology*. – 2013. – 1034: 127-143. – Библиогр.: с. 140-143 (назв. 62).

113. **Peat, J.** Medical statistics: a guide to data analysis and critical appraisal / J. Peat, V. Barton – Текст: непосредственный // NY: Blackwell Publishing. – 2015. – №1. – 324 p. – Библиогр.: с. 649-650 (назв. 24).

114. Plasma biomarkers of myocardial fibrosis and remodeling in terminal heart failure patients supported by mechanical circulatory support devices / H. Milting, P. Ellinghaus, M. Seewald [et al.]. – Текст: непосредственный // *J Heart Lung Transplant*. – 2008. – 27:589–96. – Библиогр.: с. 595-596 (назв. 38).

115. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction / R. A. de Boer, D. J. Lok, T. Jaarsma [et al.]. – Текст: непосредственный // *Ann Med.* – 2011. – 43:60–8. – Библиогр.: с. 67-68 (назв. 30).

116. Prognostic significance of a multimarker strategy of biomarkers in acute failure / P. Srinivas, C. N. Manjunath, S. Banu, K. S. Ravindranath. – Текст: непосредственный // *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* – 2014. – Vol. 8. – №9. – P. MC01-MC06. – Библиогр.: с. 5-6 (назв. 42).

117. Prognostic value of biomarkers in heart failure: application of novel methods in the community / S. M. Dunlay, Y. Gerber, S. A. Weston [et al.]. – Текст: непосредственный // *Circ Heart Fail.* – 2009. – 2: 393–400. – Библиогр.: с. 399-400 (назв. 40).

118. Prognostic value of galectin-3 for adverse outcomes in chronic heart failure / B. French, L. Wang, B. Ку [et al.]. – Текст: непосредственный // *Journal of Cardiac Failure.* – 2016. – 4: 256-262. – Библиогр.: с. 259-262 (назв. 32).

119. Prognostic value of galectin-3 in chronic heart failure: results from the HF-ACTION study / G. M. Felker, M. Fiuzat, L. K. Shaw [et al.]. – Текст: непосредственный // *Eur Heart J.* – 2010. – 31(Suppl 1): 72-78. – Библиогр.: с. 78 (назв. 14).

120. Prognostic value of galectin-3, a novel marker of fibrosis, in patients with chronic heart failure: data from the DEAL-HF study / D. J. A. Lok, P. van der Meer, P. W. Bruggink-Andre' de la Porte [et al.]. – Текст: непосредственный // *ClinResCardiol.* – 2010. – 99: 323-8. – Библиогр.: с. 328 (назв. 27).

121. Role of soluble ST2 as a marker for rejection after heart transplant / G. Y. Lee, J. O. Choi, E. S. Ju [et al.]. – Текст: непосредственный // *Korean Circ J.* – 2016 – Vol. 46(6) – P. 811-820. – Библиогр.: с. 819-820 (назв. 19).

122. **Sayed, D.** MicroRNAs in development and disease / D. Sayed, M. Abdellatif. – Текст : непосредственный // *Physiological Reviews.* – 2011. – Vol. 91. – Iss. 3. – P. 827–887. – Библиогр.: с. 868-887 (719 назв.).

123. **Schmitter, D.** Clinical use of novel biomarkers in heart failure: towards personalized medicine / D. Schmitter; G. Cotter; A. A. Voors. – Текст:

непосредственный // Heart Failure Reviews. – 2014. – Vol. 19 (3). – P. 369-381. – Библиогр.: с. 379-381 (назв. 83).

124. Serial measurement of galectin-3 in patients with chronic heart failure: results from the ProBNP Outpatient Tailored Chronic Heart Failure Therapy (PROTECT) study / S. R. Motiwala, J. Szymonifka, A. Belcher [et al.]. – Текст: непосредственный // Eur J Heart Fail. – 2013. – 15: 1157–63. – Библиогр.: с. 1163 (назв. 14).

125. Serum vascular endothelial growth factor as a surveillance marker for cellular rejection in pediatric cardiac transplantation / L. P. Abramson, E. Pahl, L. Huang [et al.]. – Текст : непосредственный // Transplantation. – 2002. – Vol. 73. – Iss. 1. – P. 153-156. – Библиогр.: с. 156 (10 назв.).

126. Soluble ST2 is a marker for acute cardiac allograft rejection / D. A. Pascual-Figal, I. P. Garrido, R. Blanco [et al.]. – Текст : непосредственный // The Annals of Thoracic Surgery. – 2011. – Vol. 92. – Iss. 6. – P. 2118-2124. – Библиогр.: с. 2123-2124 (31 назв.).

127. State of the Art: Newer biomarkers in heart failure / R. A. de Boer, L. B. Daniels, A. S. Maisel, J. L. Januzzi – Текст: непосредственный // European journal of heart failure. – 2015. – Vol. 17. – № 6. – P. 559–569. – Библиогр.: с. 567-569 (назв. 110).

128. **Stephen, L.** Multiplex immunoassay profiling of serum in psychiatric disorders / L. Stephen; E. Schwarz; P. C. Guest. – Текст: непосредственный // Adv Exp Med Biol. – 2017. – 974: 149-156. – Библиогр.: с. 155-156 (назв. 17).

129. **Suárez-Fuentetajaa, N.** Circulating galectin-3 following heart transplant: long-term dynamics and prognostic value / N. Suárez-Fuentetajaa, E. Barge-Caballeroab, A. Bayés-Genís [et al.]. – Текст: электронный // Revista Espanola de Cardiologia – 2018. – DOI: 10.1016/j.rec.2018.10.005 (дата обращения: 07.21.2018).

130. The apoptotic effect of resveratrol in ovarian cancer cells is associated with downregulation of galectin-3 and stimulating miR-424-3p transcription / A. F. El-Kott, A. A. Shati, M. Ali Al-Kahtani, S. A. Alharbi. – Текст: электронный // J Food Biochem. 2019 Oct 11:e13072. doi: 10.1111/jfbc.13072.

131. The fibrosis marker galectin-3 and outcome in the general population / R. A. de Boer, D. J. van Veldhuisen, R. T. Gansevoort [et al.]. – Текст: непосредственный // *J Intern Med.* – 2012. – 272: 55–64. – Библиогр.: с. 63 (назв. 34).

132. The Registry of International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-second official adult heart transplantation report / R. D. Yusem, L. B. Edwards, A. Y. Kucheryava [et al.]. – Текст: непосредственный // *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* – 2015. – 34:1264-1277. – Библиогр.: с. 1254 (назв. 9).

133. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirty-first adult heart transplant report / L. H. Lund, L. B. Edwards, A. Y. Kucheryavaya [et al.]. – Текст: непосредственный // *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* – 2014. – Vol. 33. – № 10. – P. 996–1008. – Библиогр.: с. 1007-1008 (назв. 8).

134. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-eighth Adult Heart Transplant Report—2011 / J. Stehlik, L. B. Edwards, A. Y. Kucheryavaya [et al.]. – Текст: непосредственный // *J Heart Lung Transplant.* – 2011. – 30:1078–94. – Библиогр.: с. 1094 (назв. 10).

135. The role of timely measurement of galectin-3, NT-proBNP, cystatin C, and hsTnT in predicting prognosis and heart function after heart transplantation / J. Franekova, I. Hoskova, P. Secnik [et al.]. – Текст: непосредственный // *Clin Chem Lab Med.* – 2015. – 2: 339-344. – Библиогр.: с. 344 (назв. 6).

136. Tubular atrophy and interstitial fibrosis after renal transplantation is dependent on galectin-3 / Z. Dang, A. MacKinnon, L. P. Marson, T. Sethi. – Текст: непосредственный // *Transplantation.* – 2012. – 93:477–84. – Библиогр.: с. 484 (назв. 29).

137. Utility of amino-terminal probrain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure – Текст: непосредственный / R. R. van Kimmenade, J. L. Jr. Januzzi, P. T. Ellinor [et al.]. // *J Am Coll Cardiol.* – 2006. – 48: 1217-1224. – Библиогр.: с. 1223-1224 (назв. 43).

138. Utilization of galectin-3 in case management across the spectrum of heart failure / P. McCullough, R. A. de Boer, F. Edelmann [et al.]. – Текст: непосредственный // *Rev Cardiovasc Med.* – 2014. – 15:197–207. – Библиогр.: с. 206-207 (назв. 36).

139. **Wang, T. J.** Multiple biomarkers for predicting cardiovascular events / T. J. Wang. – Текст: непосредственный // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2010. – Vol. 55. – №19. – P. 2092-2095. – Библиогр.: с. 2094-2095 (назв. 20).

140. What is the best biomarker for diagnosis of rejection in heart transplantation? / L. Martinez-Dolz, L. Almenar, E. Reganon [et al.]. – Текст: непосредственный // *Clinical Transplantation.* – 2009. – Vol. 23. – P. 672-680. – Библиогр.: с. 679-680 (назв. 39).