

ISSN 1995-1191

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ
И ИСКУССТВЕННЫХ
ОРГАНОВ



№2-2009

ТОМ XI

Рекормон®

ИСТОЧНИК ЭНЕРГИИ для полноценной жизни



Реклама

- **Оптимален** для достижения целевого уровня гемоглобина^{1,2}
- **Эффективен** для лечения анемии на всех стадиях ХБП^{1,2}
- **Уменьшает** число госпитализаций³
- **Улучшает** качество жизни⁴



1. Levin, F. Locatelli, N. Muirhead and E. Ritz. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20 (Suppl 6): vi1—vi2
2. *Nephrology Dialysis Transplantation. Revised European Best Practice Guidelines, May 2004; (Suppl 2): ii1—ii47*
3. Silverberg D.S. et al. *Kidney Blood Press Res* 2005; 28: 41—41
4. Ritz E. et al. *Am J Kid Dis* 2007; 49: 194—206



ЗАО «Рош-Москва»
Официальный дистрибьютор
«Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд.» (Швейцария)
Россия, 107031, Москва, Трубная площадь, дом 2
Бизнес-центр «Неглинная Плаза»
Тел. +7 (495) 229-29-99
Факс +7 (495) 229-79-99
www.roche.ru

МЕЖРЕГИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
«НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ»

ВЕСТНИК

ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

Научно-практический рецензируемый журнал
включен в перечень ведущих научных изданий,
выпускаемых в Российской Федерации, в которых
рекомендована публикация основных результатов
диссертационных исследований на соискание
ученых степеней докторов и кандидатов наук

том XI № 2–2009

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор – С.В. Готье

В.Ю. Абрамов
Э.М. Балакирев
Д.А. Гранов
В.В. Горбунов
Г.П. Иткин
М.М. Каабак
Э.Н. Казаков
И.Д. Кирпатовский
А.В. Колсанов
М.Г. Минина
Б.Л. Миронков (ответственный секретарь)
Я.Г. Мойсюк
Н.А. Онищенко
Д.В. Перлин
В.Н. Попцов
О.Н. Резник
В.И. Севастьянов
М.Л. Семеновский
Н.А. Томилина
О.М. Цирульникова
А.В. Чжао
О.П. Шевченко
Д.В. Шумаков
Е.В. Яновская (зав. редакцией)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

С.Ф. Багненко (Санкт-Петербург)
А.А. Баранов (Москва)
Л.С. Барбараш (Кемерово)
Л.А. Бокерия (Москва)
Н.П. Бочков (Москва)
А.В. Ватазин (Москва)
Р.Х. Галеев (Казань)
Э.И. Гальперин (Москва)
А.М. Гранов (Санкт-Петербург)
Ю.А. Завершинский (Екатеринбург)
А.М. Караськов (Новосибирск)
Н.О. Миланов (Москва)
М.А. Пальцев (Москва)
М.И. Перельман (Москва)
Л.М. Рошаль (Москва)
Г.Т. Сухих (Москва)
В.Д. Федоров (Москва)
М.Ш. Хубутия (Москва)
В.И. Чиссов (Москва)
А.Г. Чучалин (Москва)
Т.И. Шраер (Кемерово)
П.К. Яблонский (Санкт-Петербург)

Адрес редакции: Россия, 123182, Москва, ул. Щукинская, 1.
Тел. /факс 8 (499) 190 38 77
E-mail: transplant2009@mail.ru

ТРЕБОВАНИЯ К ПУБЛИКАЦИЯМ

- Статья должна иметь визу руководителя и сопроводительное письмо учреждения (с круглой печатью).
- В конце статьи должны быть собственноручные подписи всех авторов, полностью указаны фамилия, имя, отчество, занимаемая должность, точный почтовый адрес или e-mail, телефон лица, ответственного за переписку.
- Статья (текст, рисунки и таблицы, подписи под рисунками, список литературы, реферат 10–12 строк на русском и английском языках, ключевые слова, не более 5) присылается в редакцию в двух экземплярах.
- Статья (текст, рисунки и таблицы, подписи под рисунками, список литературы, реферат) должна быть напечатана на одной стороне стандартного листа формата А4 (210×297 мм), шрифт Times new Roman, размер не менее 12, через 1,5-ный интервал между строками, поля шириной 2,5 см.
- Таблицы, рисунки и подписи к рисункам должны помещаться в отдельном файле. Места расположения рисунков и таблиц обозначаются на полях. Ссылки на рисунки и таблицы в тексте статьи обязательны.
- К статье обязательно должен прилагаться диск RW с текстом статьи в формате «doc» или «rtf» с рисунками или фотографиями.
- Объем рукописи оригинальной статьи не должен превышать 10 страниц (без учета реферата, таблиц, рисунков, списка литературы), описание клинического случая – не более 8 страниц, краткие сообщения и письма в редакцию – не более 4 страниц, лекции, обзоры – 15 страниц.
- Оригинальная статья должна содержать следующие разделы: титульная страница, введение, цель работы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, выводы или заключение, список литературы, иллюстративный материал, реферат на русском и английском языках.
- При представлении в печать экспериментальных работ авторы должны руководствоваться Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных. Обязательно следует указывать вид, пол, количество животных, методы обезболивания и умерщвления животных.
- Титульная страница должна содержать фамилии, инициалы авторов статьи, название статьи, полное наименование учреждения, в котором проводилась работа.
- Если имеется несколько авторов, работающих в разных учреждениях, то приводится список этих учреждений с цифровыми ссылками принадлежности авторов к определенному учреждению.
- Требования к рисункам, представленным на магнитных носителях
Черно-белые штриховые рисунки: формат файла TIFF (расширение *.tif), любая программа, поддерживающая этот формат, режим – bitmap, разрешение – 600 dpi, ширина рисунка не более 180 мм, высота рисунка не более 230 мм. Каждый рисунок должен быть представлен в виде отдельного файла, озаглавленного «Рис. 1», «Рис. 2» и т. д., с указанием автора и названия статьи.
- Библиографические ссылки в тексте статьи даются в квадратных скобках в соответствии с пристатейным списком литературы. В оригинальных статьях цитируют не более 20 источников, в обзорных – не более 50. Автор несет ответственность за правильность библиографических данных.
- В соответствии с ГОСТом 7.1-84 пристатейную литературу оформляют следующим образом.
В списке литературы источники указывают в алфавитном порядке (сначала работы отечественных авторов, затем – зарубежных). Все работы одного автора нужно указывать по возрастанию годов издания. Статью, написанную коллективом авторов (более четырех), помещают в списке литературы по фамилии первого автора, при этом указывают еще двух авторов, а далее ставят «и др.», для англ. – «et al.».
Литературу указывают с названием статьи. Все источники должны быть пронумерованы в общем алфавитном порядке, а их нумерация должна строго соответствовать нумерации в тексте статьи.
- Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять принятые работы.
Статьи, отосланные авторам для исправления, должны быть возвращены в редакцию не позднее чем через месяц после получения. При возвращении статьи в более поздний срок соответственно меняются дата ее поступления в редакцию и сроки опубликования.
- Нельзя направлять в редакцию работы, напечатанные в иных изданиях или посланные в другие журналы.
- Все статьи направляются на рецензирование. При получении положительной рецензии решение о принятии статьи к публикации выносится на основании ее значимости, оригинальности, достоверности представленных материалов членами редколлегии журнала.
- Рукописи, не оформленные в соответствии с указанными правилами, не рассматриваются.
- Плата за публикацию научных работ не взимается.

Статьи направлять в редакцию журнала по адресу:
123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1, ФГУ «ФНЦТиИО им. академика В.Н. Шумакова»,
«Вестник трансплантологии и искусственных органов»
E-mail: transplant2009@mail.ru

Перепечатка опубликованных в журнале материалов допускается только с разрешения редакции.
При использовании материалов ссылка на журнал обязательна.

Присланные материалы не возвращаются.

Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции.

Редакция не несет ответственности за достоверность рекламной информации.

Издание зарегистрировано в Госкомпечати РФ, № 018616 от 23.03.99 г.

Подписной индекс

в каталоге «Газеты и журналы» – 80248.

Подписано к печати 10.04.09.

Тираж 1000 экз.

ООО «Издательство «Триада». ИД № 06059 от 16.10.01 г.
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, 9, оф. 504,
тел./факс: (4822) 42-90-22, 35-41-30
E-mail: triada@stels.tver.ru
<http://www.triada.tver.ru>

Отпечатано в ОАО «ТОТ» Ржевская типография.
г. Ржев, ул. Урицкого, д. 91. Заказ 722

СОДЕРЖАНИЕ

СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Влияние посттрансплантационных факторов на длительность выживания реципиентов после трансплантации сердца
Захаревич В.М.

Дисфункции синусового узла и особенности восстановления нормального ритма после трансплантации сердца
Шемакин С.Ю.

Недостаточность трикуспидального клапана после ортотопической трансплантации сердца
Шемакин С.Ю., Халилулин Т.А., Федосеева А.А.

Применение плазмафереза в лечении болезни коронарных артерий пересаженного сердца и оценка его эффективности
Мебония Н.З., Морозов Б.Н., Остроумов Е.Н., Куприянова А.Г., Максимова Н.А.

Морфологические и иммуногистохимические проявления различных форм острого отторжения почечного аллотрансплантата
Трашлин А.В., Никоненко Т.Н., Остапенко Т.И., Поляков Н.Н., Никоненко А.С.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Синхронизированная с ЭКГ перфузионная томосцинтиграфия в оценке перфузии, функции и асинхронии миокарда левого желудочка при ресинхронизирующей терапии
Остроумов Е.Н., Котина Е.Д., Слободяник В.В., Шумаков Д.В., Тонкошкурова В.В., Тюняева И.Ю., Честухина О.В., Ермоленко А.Е.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Физические методы создания и модифицирования биополимерных матриц
Василец В.Н., Казбанов И.В., Недосеев С.Л., Нистратов В.М., Шварцкопф П.В., Севастьянов В.И.

Разработка новых методов формирования имплантационных материалов с использованием технологий электроспиннинга и биопринтирования
Василец В.Н., Казбанов И.В., Ефимов А.Е., Севастьянов В.И.

CONTENTS

5 PAGE OF EDITOR IN CHIEF

CLINICAL ORGAN TRANSPLANTATION

6 The influence of posttransplant factors on the long-term survival after heart transplantation
Zakharevich V.M.

16 Sinus node dysfunctions and features of normal rhythm restoration after heart transplantation
Shemakin S.Y.

21 Tricuspid valve dysfunction after orthotopic heart transplantation
Shemakin S.Y., Khalilulin T.A., Fedoseeva A.A.

25 The use of plasmapheresis in the treatment of coronary artery disease of transplanted heart and evaluation of its effectiveness.
Meboniya N.Z., Morozov B.N., Ostroumov E.N., Kupriyanova A.G., Maksimova N.A.

29 Morphological and immunohistochemical manifestations of different variants of acute kidney allograft rejection
Trailin A.V., Nikonenko T.N., Ostapenko T.I., Polyakov N.N., Nikonenko A.S.

EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCHES

37 Gated spect to evaluate left ventricular myocardial perfusion, function and dyssynchrony for resynchronization therapy
Ostroumov E.N., Kotina E.D., Slobodianik V.V., Shumakov D.V., Tonkoshkurova V.V., Tuniaeva I.Y., Chestukchina O.V., Ermolenko A.E.

NEW TECHNOLOGIES

43 Physical methods of production and modification of biopolymer matrixes
Vasilets V.N., Kazbanov I.V., Nedoseev S.L., Nistratov V.M., Schwartskopf P.V., Sevastianov V.I.

47 New methods for implant matrix formation based on electrospinning and bioprinting technologies
Vasilets V.N., Kazbanov I.V., Efimov A.E., Sevastianov V.I.

Использование метода конфокальной микроскопии для изучения биологических свойств матрикса из рекомбинантной паутины
Пустовалова О.Л., Агапов И.И., Мойсенович М.М., Еремин П.С., Казюлина А.А., Архипова А.Ю., Рамонова А.А., Богош В.Г., Севастьянов В.И., Кирпичников М.П.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Послеоперационные осложнения у реципиентов при трансплантации печени: современные представления о патогенезе и основных направлениях профилактики и лечения
Хубутия М.Ш., Чжао А.В., Шадрин К.Б.

Трансплантация клеток костного мозга и пуповинной крови как способ коррекции аутоиммунных механизмов развития сахарного диабета I типа
Великий Д.А., Закирьянов А.Р., Поздняков О.М., Онищенко Н.А.

ЮБИЛЕЙ

К юбилею Эдуарда Николаевича Казакова

Информация о научно-учебном центре ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова»

54 Confocal microscopy study of biological peculiarities of scaffold made from recombinant spider silk
Pustovalova O.L., Agapov I.I., Moisenovich M.M., Eremin P.S., Kazulina A.A., Arhipova A.Y., Ramonova A.A., Bogush V.G., Sevastianov V.I., Kirpichnikov M.P.

LITERATURE REVIEW

60 Postoperative complications in liver transplant recipients: modern considerations of pathogenesis and main areas of prophylaxis and treatment.
Khubutia M.Sh., Zhao A.V., Shadrin C.B.

67 Transplantation of bone marrow cells and umbilical cord blood cells as a way for correction of autoimmune mechanisms in development of diabetes mellitus type I
Velikiy D.A., Zakirianov A.R., Pozdnyakov O.M., Onischenko N.A.

ANNIVERSARY

75 Eduard Nikolaevitch Kasakov

76 Information of scientific and training facility at Research Institute of Transplantology and Artificial organs

Глубокоуважаемые коллеги!

Важным и необходимым условием развития любого направления в медицине является наличие подготовленных квалифицированных специалистов, способных решать практические задачи в лечебно-диагностической деятельности, а также коллективов ученых, обеспечивающих развитие медицинской науки. Очень важно, чтобы обучение молодых специалистов, как и повышение квалификации врачей, осуществлялось в учреждениях, имеющих соответствующую клиническую и научную базу.

Трансплантология – относительно молодая клиническая дисциплина, связанная с бурным развитием инновационных технологий, использующая новейшие достижения во многих областях медицины, естественных и точных наук.

Уникальные возможности для обучения предоставляет Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова – многопрофильное специализированное медицинское учреждение, один из ведущих научно-исследовательских центров России.

Научно-практическая деятельность центра развивается по следующим основным направлениям:

- разработка биологических и клинических аспектов трансплантации жизненно важных органов и методов пролонгирования их функции в организме реципиента;
- клеточная трансплантация;
- искусственные и гибридные системы замещения функций организма;
- сердечно-сосудистая хирургия.

В центре осуществляются различные формы обучения: по программам вузов, послевузовского и дополнительного профессионального образования. Обучение по вузовской программе проводится на кафедре трансплантологии ММА им. Н.И. Сеченова, для которой центр является базовым учреждением. Учебные циклы по трансплантологии проходят студенты 6-го курса лечебного факультета. На кафедре «Технические системы поддержки кровообращения и дыхания», базой для которой также является наш центр, проходят обучение студенты Московского авиационного института (государственного технического университета), по дисциплинам «Трансплантология и искусственные органы», «Основы теории биотехнических систем», «Технические методы диагностических исследований и лечебных воздействий».

По программам послевузовского профессионального образования в центре проходят обучение клинические ординаторы и аспиранты. Так, в 2008 г. обучались 33 клинических ординатора, в очной аспирантуре – 11 аспирантов. В центре действует научно-учебный отдел, который осуществляет организацию обучения по программам дополнительного профессионального образования. В настоящее время в номенклатуре врачебных специальностей нет специальности «трансплантология». В центре проводятся циклы тематического усовершенствования по клинической трансплантации почки, печени, сердца. Сертификация врачей проводится по смежным дисциплинам (аллергология и иммунология, анестезиология и реаниматология, нефрология, функциональная диагностика, клиническая лабораторная диагностика, хирургия и др.).

Руководство и коллектив центра считают образовательную деятельность одним из важных направлений работы учреждения и прикладывают много усилий для обеспечения ее хорошей организации и высокого профессионального уровня.

С уважением

*главный редактор журнала,
директор ФГУ «Федеральный научный центр
трансплантологии и искусственных органов
имени академика В.И Шумакова»
Минздравсоцразвития РФ,
член-корреспондент РАМН,
профессор*



С.В. Готье

ВЛИЯНИЕ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ВЫЖИВАНИЯ РЕЦИПИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Захаревич В.М.

ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

В настоящее исследование включен 71 пациент – 61 мужчина и 10 женщин, которым в период с 1987-го по 2006 г. в НИИТиО выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Возраст пациентов на момент выполнения операции составлял от 14 до 57 лет (средний возраст 34,5 года). В исследование включены только реципиенты сердца, выписанные из стационара. Для оценки влияния на выживаемость указанных факторов был использован пакет статистических методов, включавший сравнительный анализ актуриальной выживаемости, анализ относительных рисков и отношения шансов, пропорциональный регрессионный анализ Кокса. Среди посттрансплантационных факторов, включенных в анализ, болезнь коронарных артерий пересаженного сердца идентифицирована как предиктор риска, достоверно ухудшающий прогноз отдаленной выживаемости. Наличие типов В1, В2 и С артериопатии трансплантата является особенно неблагоприятным фактором прогноза. Проведение чрескожного коронарного вмешательства у больных с типом поражения А достоверно улучшает актуриальную выживаемость по сравнению с больными с дистальным поражением (тип В1, В2 и С), которым не могло быть выполнено чрескожное вмешательство.

Ключевые слова: трансплантация сердца, отдаленные результаты, болезнь коронарных артерий

THE INFLUENCE OF POSTTRANSPLANT FACTORS ON THE LONG-TERM SURVIVAL AFTER HEART TRANSPLANTATION

Zakharevich V.M.

Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

In this study 71 patients (61 male and 10 female) were included, who have been operated in our institute from 1987 to 2006. All of them were undergoing orthotopic heart transplantation. The age of patients was from 14 to 57 years (the mean age 34,5). Only patients who were discharged from the hospital were included in the study. For statistical analysis Kaplan-Mayer survival analysis, relative risks (RR) and ODDR, proportional hazard risks regression of Cox were used. Coronary arteries disease was identified as risk factor for long-term survival prognosis. Types B1, B2 and C arteriopathy are very unfavorable for long-term survival prognosis. Percutaneous coronary intervention for type A improves long-term survival prognosis in comparison with types B and C.

Key words: heart transplantation, long-term results, coronary arteries disease

По данным некоторых исследований, период полужизни после трансплантации сердца (ТС) составляет 9,4 года [22]. С целью увеличения продолжительности жизни реципиентов после трансплантации проводятся исследования, направленные на изучение

различных факторов, влияние которых реализуется в перитрансплантационном процессе [2, 12].

Цель настоящего исследования – анализ влияния на выживаемость реципиентов посттрансплантационных факторов.

Статья поступила в редакцию 2.02.09 г.

Контакты: Захаревич Вячеслав Мефодиевич, с. н. с. отделения коронарной хирургии и трансплантации сердца ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ. **Тел.** 8-916-696-30-70, **e-mail:** zaharslava@yandex.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее исследование включен 71 пациент – 61 мужчина и 10 женщин, которым в период с 1987-го по 2006 г. в НИИТиЮ выполнена ортотопическая трансплантация сердца (ОТТС). В исследование включены только реципиенты сердца, выписанные из стационара. Возраст пациентов на момент выполнения ОТТС составлял от 14 до 57 лет (средний возраст 34,5 года). Перед включением в лист ожидания на ТС больные были обследованы по программе потенциального реципиента для ТС [2, 3]. Показанием для выполнения ТС являлась конечная стадия застойной сердечной недостаточности, обусловленная у 55 больных дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), а у 16 больных – ишемической болезнью сердца (ИБС). В 34 случаях осуществлен непосредственный забор сердечного трансплантата, в 37 случаях – дистанционный забор. Длительность ишемии трансплантата при непосредственном заборе составила от 61 до 107 мин (среднее время 83,0 мин), при дистанционном – от 90 до 330 мин (среднее время 170,7 мин). В качестве иммуносупрессивной терапии после ТС 56 пациентов получали циклоспорин А, метилпреднизолон и азатиоприн, 15 пациентов – циклоспорин А, метилпреднизолон и микофенолата мофетил (селлсепт). Из пациентов, включенных в исследование, к 2007 г. погибли 47 (66,1%). Неинфекционные осложнения стали причиной гибели 38 (80,9%) больных, инфекционные осложнения – 9 (19,1%) больных. Больные, ожидающие ТС, распределялись на группы в соответствии с алгоритмом UNOS (United Network for Organ Sharing) – статус 1А-В и 2 [2, 3].

Для анализа были отобраны следующие посттрансплантационные факторы, потенциально способные влиять на длительность выживания пациентов после ТС:

- 1) наличие острого клеточного отторжения 3А-В ISHLT;
- 2) наличие острого гуморального отторжения;
- 3) наличие БКАПС;
- 4) выполнение ЧКВ при БКАПС;
- 5) наличие ЭКС;
- 6) наличие БПППГ;
- 7) наличие артериальной гипертензии;
- 8) наличие злокачественных новообразований;
- 9) инфицирование ЦМВ;
- 10) наличие гепатотропной инфекции (HBV и/или HCV).

В соответствии с выбранными факторами были сформированы группы для сравнительного анализа (табл. 1).

Таблица 1

Анализируемые факторы и группы сравнения

Факторы	Группы	N
Наличие острого клеточного отторжения 3А-В ISHLT	Есть	35
	Нет	36
Наличие острого гуморального отторжения	Есть	30
	Нет	41
Наличие БКАПС	Есть	29
	Нет	42
Верифицированная БКАПС	Выполнено ЧКВ	12
	Не было ЧКВ	11
Пациенты без БКАПС в сравнении с пациентами с БКАПС, у которых выполнено ЧКВ (артериопатия трансплантата типа А)	Без БКАПС	42
	БКАПС с ЧКВ	12
Пациенты без БКАПС в сравнении с пациентами с БКАПС, у которых ЧКВ не выполнялось (артериопатия трансплантата типов В и С)	Без БКАПС	42
	БКАПС без ЧКВ	11
Наличие ЭКС	Есть	16
	Нет	55
Наличие БПППГ	Есть	16
	Нет	39
Наличие артериальной гипертензии	Есть	34
	Нет	37
Наличие злокачественных новообразований	Есть	4
	Нет	67
Наличие гепатотропной инфекции (HBV и/или HCV)	Есть	23
	Нет	48
Наличие CMV	Есть	30
	Нет	41

Статистическая обработка материала

Статистический анализ был выполнен с использованием пакетов статистики (StatSoft, Inc. 2001; SPSS версия 12 (SPSS Corporation) и NCSS версии 2004, Hintze, J (2001); NCSS and PASS; Number Cruncher Statistical Systems; Kaysville, Utah). Анализ выживаемости пациентов с пересаженным сердцем выполняли по методу Каплана–Майера (Kaplan–Meier). Соответствие анализируемых параметров закону нормального распределения оценивали по значениям тестов Уилкоксона–Гехана. Уровень вероятности гипотезы однородности p^{w-g} , определенный на основании рассчитанного по значениям критерия Уилкоксона–Гехана, явился опосредованным основанием для суждения об отсутствии влияния исследуемого фактора, либо исследуемые данные не позволяют согласиться с отсутствием влияния этого фактора и риск, с ним связанный, следует оценить более детально. Для оценки влияния факторов и рисков, с ними связанных, в предположении, что действует только рассматриваемый фактор, применены такие показатели, как относительный риск (RR – relative

risk) и отношение шансов (ODDR) по группе исследуемых факторов на выборках с произошедшей смертью к 5,6 года после ТС и переживших этот рубеж, соответствующий периоду полужизни для всей популяции. ODDR и RR значением больше 1 указывают на ухудшающее влияние исследуемого фактора относительно возможности умереть до 5,6 года, значения меньше 1 указывают на улучшающее влияние, то есть на шанс попасть в группу проживших более 5,6 года. Оценку степени влияния факторов на время выживания проводили с помощью регрессионной модели и уравнения регрессии Кокса, коэффициенты которого при переменных, назначенных факторами, показывают направление влияния, а уровни статистической значимости ($p < 0,05$) – проверку нулевой гипотезы, т. е. насколько можно доверять суждению о степени и качестве риска. Риски больше 1 указывают на ухудшающее влияние соответствующих факторов относительно возможности выживания после ТС, значения меньше 1 – на улучшающее влияние.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ влияния посттрансплантационных факторов на длительность выживания

Анализ степени влияния оцененных посттрансплантационных факторов по формуле накопленной вероятности выживания Каплана–Майера (табл. 2) показал, что достоверное положительное влияние на выживаемость оказывает только выполнение ЧКВ на артериях трансплантата при наличии БКАПС (тип А артериопатии). Воздействие других факторов не достигало уровня статистической значимости. Развитие злокачественных новообразований в посттрансплантационном периоде оказывает парадоксальный результат на актуриальную выживаемость, который интерпретируется в обсуждении. Далее представлены данные сравнительных анализов по Каплану–Майеру в зависимости от наличия/отсутствия БКАПС и выполнения ЧКВ.

Как видно из рис. 1, анализ не показал достоверного различия актуриальной выживаемости в группах пациентов с БКАПС и без БКАПС ($p > 0,05$).

Рис. 2 демонстрирует достоверно более высокую актуриальную выживаемость в группе больных БКАПС с артериопатией трансплантата типа А по Gao S.Z., 1988 [10], подвергшихся ЧКВ, по сравнению с больными БКАПС с артериопатией трансплантата типов В и С, не подвергавшимися ЧКВ ($p < 0,05$).

Таблица 2

Унивариантный анализ выживаемости по формуле накопленной вероятности Каплана–Майера

Посттрансплантационные факторы	p
Острое клеточное отторжение	0,24602
Гуморальное отторжение	0,06599
БКАПС	0,45710
БКАПС (тип А) + ЧКВ / БКАПС (тип В,С) без ЧКВ	0,00039
БКАПС (тип А) + ЧКВ / нет БКАПС	0,00499
БКАПС (тип В,С) без ЧКВ / нет БКАПС	0,80819
ЭКС	0,40755
БПНПГ	0,00524
Артериальная гипертензия	0,65124
Злокачественные новообразования	0,04033
Инфицирование СМВ	0,09542
Гепатотропная инфекция	0,23926

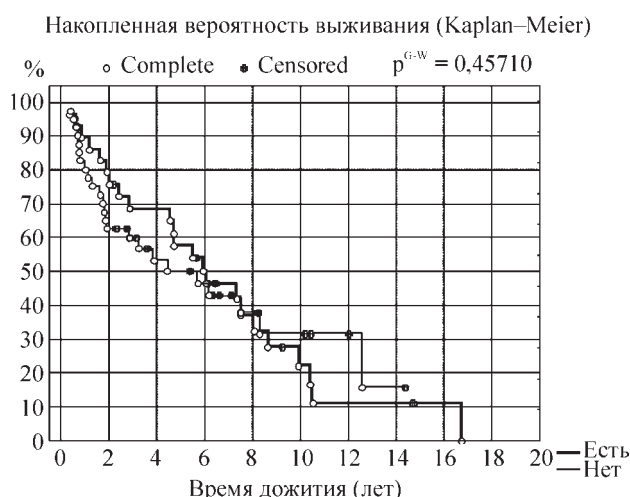


Рис. 1. Сравнение актуриальной выживаемости пациентов после ТС в зависимости от наличия БКАПС. Variable: **Время дожития, лет.** Grouping variable: **БКАПС (Есть vs. Нет).** Total number of valid observations: 71; uncensored: 47 (66,20%) censored: 24 (33,80%). Valid observations: **Group 1 (Есть БКАПС): 29; Group 2 (Нет БКАПС): 42**

Из рис. 3 видно, что имеет место достоверно лучшая актуриальная выживаемость в группе больных после ТС с развитием БКАПС, подвергшихся ЧКВ (тип А артериопатии трансплантата), по сравнению с больными после ТС без развития БКАПС ($p < 0,05$).

При анализе табл. 3 видно, что отношение шансов и относительный риск больше 1 указывают на ухудшающее влияние относительно возможности дожить до 5,6 года следующих факторов: постоянная электрокардиостимуляция, инфицирование СМВ и наличие артериальной гипертензии.

Значения OR и RR меньше 1 показали отсутствие неблагоприятного влияния на прогноз относительно возможности дожить до 5,6 года для

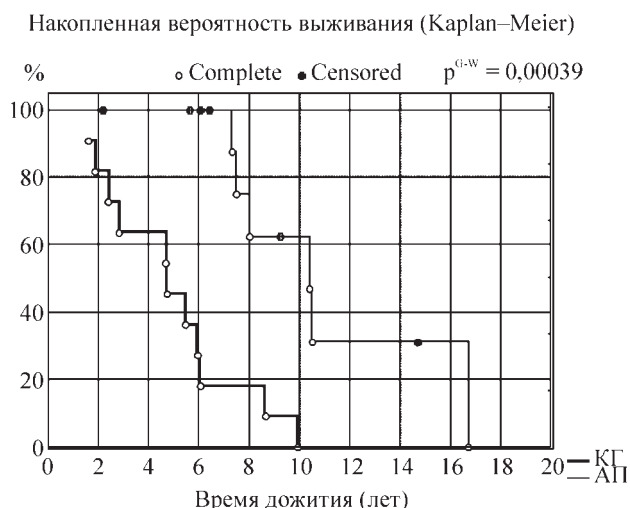


Рис. 2. Сравнение актуальной выживаемости пациентов после ТС с БКАПС в зависимости от выполнения ЧКВ (группы «без ЧКВ» / «ЧКВ»). Variable: **Время дожития, лет.** Grouping variable: **БКАПС («без ЧКВ» vs. «ЧКВ»).** Total number of valid observations: **23**; uncensored: **17 (73,91%)**; censored: **6 (26,09%)**. Valid observations: **Group 1 («без ЧКВ»): 11; Group 2 («ЧКВ»): 12**



Рис. 3. Сравнение актуальной выживаемости больных с БКАПС, подвергшихся ЧКВ, и больных без БКАПС. Variable: **Время дожития, лет.** Grouping variable: **БКАПС + ЧКВ vs. нет БКАПС.** Total number of valid observations: **54**; uncensored: **30 (55,56%)**; censored: **24 (44,44%)**. Valid observations: **Group 1 (БКАПС+ЧКВ): 12; Group 2 (нет БКАПС): 42**

Таблица 3

Отношения шансов и относительный риск выживаемости после ТС для посттрансплантационных факторов

Предтрансплантационный фактор	Odds Ratio (OR)	95% доверительный интервал	Относительный риск RR умереть до 5,6 года	95% доверительный интервал	Относительный риск RR прожить более 5,6 года	95% доверительный интервал
ЭКС (есть / нет)	3,611	0,924 14,111	1,49	1,063 2,087	0,413	0,143 1,191
СМВ (есть / нет)	2,015	0,746 5,441	1,305	0,902 1,886	0,647	0,342 1,225
АГ (есть / нет)	1,101	0,424 2,858	1,039	0,714 1,512	0,943	0,529 1,682
БКА (тип В,С / нет БКА)	0,875	0,219 3,499	0,955	0,582 1,566	1,091	0,447 2,659
Острое клеточное отторжение (есть / нет)	0,754	0,29 1,957	0,894	0,613 1,305	1,187	0,665 2,117
БКА (есть / нет)	0,536	0,203 1,414	0,776	0,514 1,171	1,448	0,819 2,561
БПНПГ (есть / нет)	0,255	0,073 0,882	0,488	0,227 1,046	1,915	1,123 3,266
НВВ и/или НСВ (есть / нет)	0,35	0,125 0,975	0,632	0,382 1,046	1,809	1,042 3,141
Гуморальное отторжение (есть / нет)	0,28	0,103 0,762	0,592	0,378 0,928	2,112	1,166 3,827
БКА (нет ЧКВ / ЧКВ)	0,114	0,016 0,806	0,262	0,068 1,002	2,292	1,008 5,212
БКА (ЧКВ / нет БКА)	0,1	0,019 0,52	0,25	0,069 0,902	2,5	1,521 4,109
ЗН (есть / нет)	—	—	Умерших нет	—	—	2,792 2,026 3,846

носителей следующих факторов: острое клеточное отторжение, острое гуморальное отторжение, болезнь коронарных артерий пересаженного сердца, выполнение ЧКВ при БКАПС типа А, блокада правой ножки пучка Гиса, инфицирование гепатотропными вирусами. Однако шансовый анализ в небольших популяциях является весьма грубым инструментом оценки прогноза, и поэтому относиться к его результатам следует весьма сдержанно.

Результаты мультивариантного пропорционального регрессионного анализа по Коксу для посттрансплантационных факторов показали, что наличие острого клеточного отторжения, при оценке

его влияния в совокупном воздействии с другими посттрансплантационными факторами, не ухудшает прогноз отдаленной выживаемости (степень риска 0,00007). Наиболее важными предикторами риска являются наличие БКАПС (степень риска 2,69), наличие типов В и С артериопатии трансплантата, причем как в сопоставлении с наличием типа А, позволившим в нашей популяции пациентов выполнить ЧКВ (степень риска 5,93), так и в сопоставлении с пациентами без БКАПС (степень риска 5,73). Степень положительного или отрицательного влияния на прогноз выживаемости других факторов не достигает уровня статистической значимости (табл. 4).

Таблица 4

Пропорциональная регрессионная модель Кокса для посттрансплантационных факторов

Зависимая переменная: время дожития, лет, $\chi^2 = 22,3386$, $df = 4$, $p = 0,00017$						
	Beta	Standard	t-value	exponent	Wald	p
Острое клеточное отторжение	0,00007	0,000034	1,99846	1,00007	3,99383	0,045676
БКАПС (есть / нет)	2,69416	0,730877	3,68621	14,79315	13,58814	0,000228
БКАПС (В,С / А)	-5,92836	1,368918	-4,33069	0,00266	18,75488	0,000015
БКАПС (В,С / нет БКАПС)	-5,72464	1,416293	-4,04199	0,00326	16,33766	0,000053

1. Beta – коэффициент (его оценка) при соответствующем факторе в регрессионном уравнении. Значение коэффициента и есть вклад соответствующего фактора в совокупный риск. 2. Standard – стандартная ошибка оценки коэффициента. 3. t-value – значение t-критерия для оценки коэффициента (отношение оценки коэффициента к его стандартной ошибке). 4. exponent – значение $\exp(\text{Beta})$ – значения относительного риска, связанного с изменением фактора на n единиц. 5. Wald – значение критерия Вальда для оценки коэффициента. 6. p – значение вероятности ошибки оценки коэффициента.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным регистра трансплантации сердца и легких 2005 г., в мире выполнено более 70 000 ТС. Выживаемость более 1 года составила 82%. Продолжительность полужизни 50% выписанных из клиники пациентов с пересаженным сердцем составила 9,4 года [22]. В настоящее время одной из актуальных проблем в сердечной трансплантологии является изучение роли пред-, интра- и посттрансплантационных факторов риска, лимитирующих длительность выживания пациентов с пересаженным сердцем [2, 8]. С октября 1986 г. по октябрь 2006 г. в ФГУ НИИТиИО Росздрава выполнено 114 ТС. В анализ настоящего исследования включен 71 пациент с пересаженным сердцем после выписки из клиники. Пациенты, погибшие на госпитальном этапе после ТС, в анализ не включены, так как проблема первичной госпитальной летальности после ТС является предметом отдельного исследования.

ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ**Острая реакция отторжения (ОРО)**

Несмотря на прогресс в иммуносупрессивной терапии, используемой при ТС, острое отторжение является серьезным фактором смертности. У пациентов с дисфункцией левого желудочка пересаженного сердца во время эпизода рефрактерного острого отторжения после пересадки сердца летальность может достигать 20–30% [2, 12]. Исследования показали, что в 32% нарушение функции трансплантата с развитием клиники сердечной недостаточности обусловлено гуморальным отторжением, которое было идентифицировано при ЭМБ [13]. Тяжелые гемодинамические расстройства отмечаются в 5% эпизодов острого клеточного отторжения (ОКО) [16]. 3-месячная актуальная выживаемость составила 60% после отторжения с гемодинамическими нарушениями и 95% при ОКО с отсутствием нарушений гемодинамики. Авторы заключают, что ОКО

с гемодинамическими расстройствами хотя и редки, но являются серьезным осложнением ТС с неблагоприятным отдаленным прогнозом.

В нашем исследовании острая реакция клеточного отторжения в посттрансплантационном периоде имела место у 35 (49,3%) из 71 пациента, выписанного из клиники. Анализ показал отсутствие достоверных различий отдаленной выживаемости между группами с наличием и отсутствием ОКО. В попытке определить роль отторжения в воздействии на выживаемость мы дополнительно выделили две группы в зависимости от наличия эпизодов острого гуморального отторжения (ОГО): у 30 больных присутствовали эпизоды ОГО, у 40 их не было. Все варианты статистического анализа показали, что наличие эпизодов ОКО и ОГО без нарушения насосной функции трансплантата не влияет негативным образом на прогноз выживаемости. Наши данные, вероятно за счет малого количества наблюдений, некоторым образом расходятся с данными зарубежных авторов и не идентифицируют ОРО без гемодинамических нарушений как фактор, ухудшающий прогноз выживаемости. Мнение, что ОРО с нарушениями насосной функции трансплантата крайне неблагоприятна для прогноза, совпадает с их выводами.

Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС)

При сегодняшнем уровне развития сердечной трансплантологии основной проблемой, лимитирующей длительность выживания пациентов с пересаженным сердцем, остается болезнь коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) [1, 2, 8, 12]. Решение этой проблемы является актуальной задачей патофизиологии и трансплантологии. Наряду с зарубежными авторами значительный вклад в изучение БКАПС внесли сотрудники ФГУ «НИИ трансплантологии и искусственных органов Росмедтехнологий» [1–4].

Сложные механизмы ишемии миокарда и иммунного конфликта лежат в основе гипотезы пато-

генеза БКАПС. Развитие коронарной ангиопатии аллотрансплантата в силу отсутствия афферентной иннервации протекает без болевой симптоматики, характерной для ишемического повреждения, и клинически может проявляться развитием острого инфаркта миокарда, сердечной недостаточностью либо внезапной смертью. В связи с этим решение вопросов ранней диагностики поражения коронарных артерий приобретает наибольшую актуальность [1]. При внезапной смерти поражение коронарных артерий (КА) трансплантата выявлено в 9% случаев в сроки от 1 до 3 мес., в 42% – до 2 лет, в 46% – до 5 лет и в 49% – более 5 лет после ТС [1, 12]. Коронарография на сегодняшний день является основным методом оценки характера и степени поражения коронарных артерий трансплантата, вариантов прогрессирования и распространения в них патологических процессов, определения лечебной тактики у данной категории пациентов [1, 5, 20, 25]. Ангиографические изменения, выявляемые при исследовании коронарного русла сердечных аллотрансплантатов, имеют ряд специфических признаков, отличающих их от коронарного поражения, присущего атеросклерозу при ИБС. Классификация ангиографических признаков болезни коронарных артерий трансплантированного сердца выделяет 4 основных типа поражения: А, В1, В2, С [10].

- Тип А – характеризуется наличием локального и (или) тубулярного, протяженного стеноза, а также множественных стенозов в проксимальных, средних и дистальных сегментах ветвей.
- Тип В1 – диффузное концентрическое сужение с нормальным проксимальным диаметром сосуда и резким началом дистального концентрического сужения вплоть до облитерации артерии.
- Тип В2 – переход от нормального проксимального участка сосуда с конусообразным концентрическим сужением к дистальному концу.
- Тип С – диффузно пораженные сосуды неправильной формы, с обрубком и полной обструкцией дистальных сегментов артерии, с окклюзированными ответвлениями и отсутствием коллатеральных сосудов.

Представленные варианты анатомических изменений как проявление болезни коронарных артерий трансплантата с разной степенью выраженности присутствуют в артериях первого, второго и третьего порядка. Современные принципы профилактики и лечения болезни коронарных артерий пересаженного сердца включают патогенетически обоснованное использование различных групп препаратов, использование новых иммуносупрессантов, плазмаферез, коронарную реваскуляризацию (ангиопластика со стентированием, трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация и крайне редко – аортокоронарное шунтирование) и, наконец,

ретрансплантацию. Однако неясность патогенеза не позволяет в полной мере проводить патогенетически обоснованную терапию. Чрескожные коронарные вмешательства (ЧКВ) в качестве метода устранения облитерирующих атеросклеротических изменений в сосудистой стенке сердечного аллотрансплантата начали применяться с 1985 г. [7], и во многих трансплантационных центрах их проведение является основной лечебной стратегией при развитии БКАПС типа А [5, 19–21, 25]. Aranda et al. показали достоверное негативное влияние БКАПС на отдаленную выживаемость, однако, по их данным, отсутствовало влияние проведения ЧКВ на выживаемость в сравнении с только медикаментозной терапией [6]. При наличии стенозов более 70% показано достоверное положительное влияние ЧКВ на среднесрочную выживаемость в сравнении с группой медикаментозной терапии [19]. Имплантация стентов с лекарственным покрытием у реципиентов сопровождается 100% ангиографическим и процедурным успехом и сопряжена с низкой частотой развития рестенозов в стентах, однако необходимость повторной реваскуляризации, обусловленной прогрессированием БКАПС, сохраняется почти у половины пациентов [21]. При тяжелом многососудистом проксимальном и дистальном поражении КА и развитии некурабельной сердечной недостаточности показана только ретрансплантация сердца [1, 2, 12]. При анализе литературных данных становится ясно, что ЧКВ, являясь по сути паллиативным методом лечения БКАПС, приобретают все более широкое клиническое применение.

В нашем исследовании было выявлено 29 реципиентов (40,8%), у которых на протяжении посттрансплантационного периода развилась БКАПС. У 42 (59,2%) больных БКАПС не было. У 6 из них БКАПС была обнаружена в результате патологоанатомического исследования вне нашего института, и доподлинно установить тип артериопатии было невозможно. У 23 пациентов БКАПС выявлена в нашей клинике в процессе ангиографического обследования, коронарограммы были тщательно проанализированы, и проведена стратификация этих пациентов. У 12 из них выявлен тип поражения А по Gao S.Z. [10], у 11 – тип поражения В и С. При наличии типа поражения А было выполнено ЧКВ КА трансплантата в сроки до 5 лет – у 8, и после 5 лет – у 4 пациентов. Средний срок наблюдений составил $23,5 \pm 5,5$ мес. Максимальное время наблюдения после стентирования ПМЖВ составило более 8 лет. Только 50% пациентов, подвергшихся эндоваскулярному лечению БКАПС, погибли в последующем от нее же, остальные умерли от экстракардиальных причин. Этот факт свидетельствует о том, что выполнение ЧКВ при БКАПС (тип А ар-

териопатии трансплантата) является эффективной лечебной стратегией.

Проведенная нами сравнительная оценка актуальной выживаемости пациентов показала, что наличие БКАПС достоверно ($p > 0,05$) не влияет на актуальную выживаемость. Шансовый анализ также показал отсутствие негативного влияния БКАПС на возможность дожития до медианы выживаемости ($ODDR < 1$). Однако мультивариантный регрессионный анализ Кокса, обладающий значительно большей предсказующей значимостью и учитывающий воздействие фактора при его совокупном влиянии с другими факторами, показал, что наиболее важными предикторами риска являются наличие БКАПС (степень риска 2,69), наличие типов В и С артериопатии трансплантата, причем как в сопоставлении с наличием типа А, позволившем в нашей популяции пациентов выполнить ЧКВ (степень риска 5,93), так и в сопоставлении с пациентами без БКАПС (степень риска 5,73) ($p < 0,05$). Результаты регрессионного анализа свидетельствуют о том факте, что выполнение ЧКВ при типе поражения А позволяет практически уравнивать степень риска для этой группы и для группы реципиентов без БКАПС относительно прогноза выживаемости по сравнению с группой реципиентов с типом поражения КА В и С. Проведение ЧКВ без стентирования или со стентированием КА у 12 больных с типом поражения А достоверно увеличило актуальную выживаемость ($p < 0,05$) по сравнению с 11 больными, страдавшими БКАПС с дистальным поражением КА (тип В1, В2 и С), которым ЧКВ не могла быть выполнена. Сравнение актуальной выживаемости в группе пациентов без БКАПС и в группе пациентов с БКАПС, у которых было выполнено ЧКВ, показало достоверно более высокую выживаемость в последней группе. Такая ситуация может быть обусловлена тем обстоятельством, что устранение гемодинамически значимых стенозов КА при типе поражения А значительно улучшает прогноз выживаемости и выводит его на уровень, близкий к реципиентам без БКАПС. Также к возможным причинам такого результата ведет то обстоятельство, что пациенты, которым было выполнено ЧКВ, находятся под более пристальным и частым наблюдением, что позволяет профилактизировать у них развитие других осложнений, сокращающих длительность жизни. Результаты анализа актуальной выживаемости по Каплану–Майеру в некоторых парах групп, на первый взгляд, труднообъяснимы. Такие «парадоксы» обусловлены, во-первых, малочисленностью указанных групп, во-вторых, тем, что БКАПС как диагноз мы используем тогда, когда выявлены уже минимальные стенозирующие поражения КА. В-третьих, при статистическом анализе как нами, так и другими авторами включены в

анализ все пациенты с БКА, независимо от степени поражения КА пересаженного сердца, независимо от варианта течения БКАПС – быстро прогрессирующего (до 6 мес.) или медленно прогрессирующего (от 6 мес. до 10 и более лет). В настоящем исследовании отсутствует дифференцированный подход при анализе актуальной выживаемости в зависимости от степени стенозирования (менее или более 50%), варианта поражения КА (тип А, В1–2, С) и клинического варианта течения БКАПС. К сожалению, в настоящем исследовании выполнение подобного анализа было невозможным из-за малочисленности наблюдений. Таким образом, ЧКВ на КА трансплантата пролонгирует выживаемость, а летальность у этой категории больных не всегда связана со стенозирующим поражением КА пересаженного сердца. И хотя процедура ЧКВ по сути своей является паллиативной, тем не менее она достоверно пролонгирует жизнь пациентов после ТС, у которых развилась артериопатия трансплантата типа А. Эти данные совпадают с данными многих исследователей относительно значимости негативного влияния БКАПС на прогноз отдаленной выживаемости после ТС. Эволюция четырех десятилетий опыта ТС привела к улучшению общей выживаемости. Опасность смерти от отторжения и инфекции со временем снизилась, прежде всего в результате разработки новых иммуносупрессоров, антибиотиков, противовирусных препаратов. С другой стороны, среди причин смерти в сроки до 3 мес. БКАПС составляет 6%, от 3 мес. до 2 лет – 42%, от 2 до 5 лет – 46% и свыше 5 лет – 49%. Выживаемость при развитии БКАПС более 1 года – 67%, более 2 лет – 44%, и более 5 лет – 17% [12]. Таким образом, БКАПС лидирует среди причин смертности после трансплантации сердца. Интервенционные методы ее лечения позволяют увеличить продолжительность жизни реципиентов. Однако патогенетически обоснованная профилактика и терапия БКАПС нуждаются в дальнейшей разработке.

Постоянная электрокардиостимуляция

Проведенный нами анализ не идентифицировал постоянную электрокардиостимуляцию как фактор риска, ухудшающий прогноз выживаемости. Авторы также не приводят данных, свидетельствующих о том, что постоянная ЭКС достоверно ухудшает прогноз выживаемости после ТС [26].

Блокада правой ножки пучка Гиса

В анализ было включено только 55 пациентов. 16 пациентов, которым был имплантирован постоянный ЭКС, были исключены из этого анализа. При сравнении актуальной выживаемости групп пациентов, у которых была выявлена блокада ПНПГ ($n = 16$) и у которых БПНПГ не была выявлена ($n = 39$),

обнаружено, что БПНПГ достоверно не ухудшает прогноза выживаемости после ТС. Шансовый и регрессионный анализ Кокса не идентифицировали БПНПГ как фактор, влияющий на прогноз выживания. Наши данные согласуются с данными Marcus et al. относительно того, что БПНПГ не является прогностически неблагоприятным фактором [15].

Посттрансплантационная артериальная гипертензия

Посттрансплантационная артериальная гипертензия (АГ) выявлена у 34 (47,9%) пациентов с пересаженным сердцем. Используемые нами варианты анализа не идентифицировали АГ как фактор риска для отдаленной выживаемости. Посттрансплантационная АГ в значительной степени является медикаментозно обусловленной [2, 8, 12]. Мы не можем утверждать, что развитие посттрансплантационной АГ является фактором, лимитирующим длительность жизни пациентов с пересаженным сердцем. Мнения [8, 12] совпадают с нашими заключениями относительно влияния АГ на прогноз выживаемости.

Злокачественные новообразования

Злокачественные новообразования (ЗН), выявленные у 5,6% больных с пересаженным сердцем, начиная с 6-го года после ТС, являются значимым фактором летальности, однако при сравнении актуальной выживаемости в группе пациентов без развития онкологических осложнений и в группе с развитием таковых нами продемонстрировано достоверное различие актуальной выживаемости в группах ($p = 0,04$), причем выживаемость в группе пациентов с онкологическими осложнениями выше. Данный факт определяется тем обстоятельством, что начало регистрации данных осложнений приходится на период 6 и более лет после ТС, что превышает период полужизни в анализируемой популяции. Все пациенты с онкологическими заболеваниями в нашей популяции относятся к категории «долгожителей». Шансовый и регрессионный мультивариантный анализ Кокса также не идентифицировали ЗН как фактор, лимитирующий отдаленную выживаемость реципиентов после ТС. Данные нашего исследования совпадают с данными других исследователей [9, 11] в части, касающейся структуры заболеваемости. У 2 из 4 наших пациентов были выявлены базалиомы кожи. Оценить сопоставимость наших данных по другим критериям (сроки развития, выживаемость, нозологическая структура и т. д.) не представляется возможным ввиду малой численности группы (всего 4 наблюдения). На основании анализа данных зарубежных авторов, базирующихся

на несравнимо более объемном клиническом материале, можно полагать, что ЗН являются важной причиной, лимитирующей длительность выживания реципиентов [9].

ЦМВ-инфекция

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) – одна из наиболее распространенных инфекционных причин заболеваемости и смертности у пациентов с пересаженными органами [2, 3, 8, 18]. В нашем исследовании был проведен сравнительный анализ актуальной выживаемости 30 инфицированных и 41 неинфицированного ЦМВ реципиента. Выявлено, что наличие ЦМВИ достоверно не влияет на актуальную выживаемость ($p > 0,05$). Шансовый анализ идентифицировал ЦМВИ в посттрансплантационном периоде как фактор, снижающий вероятность дожития до медианы выживаемости (5,6 года) (ODDR = 2,01). При регрессионном анализе Кокса степень влияния на прогноз выживаемости ЦМВИ не достигла уровня статистической значимости. Авторы единодушны в своем мнении, что ЦМВИ является фактором, провоцирующим и ускоряющим развитие БКАПС [18, 23]. Такие заключения сделаны на основании сравнения групп, в которых проводилась напряженная ранняя профилактика ЦМВИ (гипериммунный анти-ЦМВ-иммуноглобулин + ганцикловир), и в которых такая профилактика не проводилась или использовался только ганцикловир. Большинство авторов, исследующих влияние ЦМВИ на посттрансплантационные процессы, подчеркивают, что в раннем посттрансплантационном периоде необходимо проведение агрессивной профилактики ЦМВИ, включающей гипериммунный анти-ЦМВ глобулин и ганцикловир. Мы поддерживаем данную концепцию. Реципиенты нашей популяции в качестве профилактики получали ганцикловир.

Гепатотропная инфекция

Инфицирование вирусами HBV и HCV после ТС опасно в связи с возможностью гибели от хронического гепатита и первичного рака печени [17]. В нашем исследовании был проведен сравнительный анализ актуальной выживаемости двух групп реципиентов – 23 инфицированных (HBV, HCV, HBV + HCV) и 48 неинфицированных. Ни один из выполненных нами вариантов анализа не идентифицировал гепатотропную инфекцию как фактор риска для отдаленной выживаемости. Все пациенты в нашем исследовании, погибшие от гепатитов, к моменту смерти перешагнули рубеж полужизни и относились к категории долгожителей. Этот факт, по-видимому, и обусловил отсутствие влияния гепатотропной инфекции на отдаленную выживаемость. Исследования показали, что HBV-инфекция

после ТС ведет к хроническому поражению печени у большинства инфицированных пациентов, являясь причиной цирроза более чем у 55% инфицированных пациентов в течение первого десятилетия после ТС [24]. Печеночная недостаточность является наиболее распространенной причиной смерти в группе инфицированных реципиентов. Авторы полагают, что активная HBV-вакцинация необходима для всех потенциальных реципиентов сердца. Lunel et al., напротив, заключают, что гистологические изменения в печени не прогрессируют быстро у пациентов с посттрансплантационной гепатотропной инфекцией, обусловленной HBV или HCV [14]. Авторы делают вывод о незначительном влиянии инфицирования вирусами гепатитов В и С на выживаемость после ТС. Таким образом, с одной стороны, инфицирование HBV- и HCV-вирусами у пациентов после ТС является фактором риска развития фатальных нарушений функции печени, а с другой стороны, большинство авторов отмечают незначительное влияние гепатотропной вирусной инфекции на отдаленную выживаемость после ТС. Большинство исследователей полагают, что для профилактики посттрансплантационной HBV-инфекции необходима активная вакцинация кандидатов на ТС, состоящих в листе ожидания. Учитывая высокий риск развития вышеперечисленных осложнений, в протоколе подготовки к ТС НИИТ и ИО с 1998 г. обязательным мероприятием является профилактическая вакцинация против вируса гепатита В.

Резюмируя наше исследование, можно с уверенностью заключить, что БКАПС, оставаясь до сих пор патологией неясного генеза, лидирует среди причин смертности реципиентов после трансплантации сердца. Интервенционные методы ее лечения, являясь паллиативными, все же позволяют увеличивать продолжительность жизни реципиентов. Патогенетически обоснованная профилактика и терапия БКАПС нуждаются в дальнейшей разработке. Решение этих вопросов позволит радикально снизить смертность после ТС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- БКАПС идентифицирована как предиктор риска, достоверно ухудшающий прогноз отдаленной выживаемости. Наличие типов В1, В2 и С артериопатии трансплантата, причем как в сопоставлении с типом А, так и в сопоставлении с пациентами без БКАПС является особенно неблагоприятным фактором прогноза.
- Проведение ЧКВ у больных БКАПС с типом поражения А достоверно улучшает актуальную выживаемость по сравнению с больными, страдавшими БКАПС с дистальным поражением

(тип В1, В2 и С), которым не могло быть выполнено ЧКВ.

- Наличие в посттрансплантационном периоде эпизодов острого клеточного и гуморального отторжения без нарушений гемодинамики не является предиктором неблагоприятного прогноза для отдаленной выживаемости.
- Нарушение проводимости по правой ножке пучка Гиса, а также посттрансплантационная дисфункция синусового узла, требующая постоянной ЭКС, и посттрансплантационная артериальная гипертензия не идентифицированы как факторы риска, ухудшающие прогноз отдаленной выживаемости.
- Наличие злокачественных новообразований в посттрансплантационном периоде не идентифицировано как фактор, лимитирующий отдаленную выживаемость реципиентов.
- Цитомегаловирусная и гепатотропная инфекция (HBV и/или HCV) в посттрансплантационном периоде достоверно не ухудшают прогноз отдаленной выживаемости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца* / Под ред. В.И. Шумакова. М.: ООО «МИА», 2008. 160 с.
2. *Трансплантация сердца: Руководство для врачей* / Под ред. В.И. Шумакова. М.: ООО «МИА», 2006. 400 с.
3. *Трансплантология: Руководство для врачей* / Под ред. В.И. Шумакова. М.: ООО «МИА», 2006. 540 с.
4. *Шумаков В.И., Хубутия М.Ш., Шевченко О.П.* Отторжение пересаженного сердца. М.: Реафарм, 2005. 240 с.
5. *Agel R.A., Wells B.J., Hage F.G., Tallaj J. et al.* Re-stenosis after drug-eluting stents in cardiac allograft vasculopathy // *J Heart Lung Transplant.* 2008. V. 27 (6). P. 610–615.
6. *Aranda J.M., Pauly D.F., Kerensky R.A. et al.* Percutaneous coronary intervention versus medical therapy for coronary allograft vasculopathy. One centers experience // *J Heart Lung Transplant.* 2002. V. 21 (8). P. 860–866.
7. *Avedissian M.G., Bush H.S., Leachman D.R. et al.* Percutaneous transluminal coronary angioplasty after cardiac transplantation // *Texas Heart Institute J.* 1989. V. 16. P. 288–291.
8. *Baumgartner W.A.* Heart and lung transplantation. Saunders, 2nd edition. 2002. 597 p.
9. *Crespo-Leiro M.G., Alonso-Pulpon L., Vazquez de Prada J.A. et al.* Malignancy after heart transplantation: incidence, prognosis and risk factors // *Am J Transplant.* 2008. V. 8 (5). P. 1031–1039.
10. *Gao S.Z., Alderman E.L., Schroeder J.S., Silverman J.F., Hunt S.A.* Accelerated coronary vascular disease in the heart transplant patient: coronary arteriographic findings // *J Am Coll Cardiol.* 1988. V. 12 (3). P. 334–340.

11. Hoffmeier A., Wagner T., Nashan D., Rukosujew A., Erren M., Schmid C., Wirtz S.P., Scheld H.H. Malignomas following heart transplantation. *Z Kardiol.* 2002. V. 91 (12). P. 1013–1023.
12. Kirklin J.K., Yong J.B., McGiffin J.B. Heart transplantation. Churchill Livingstone, 1st edition. 2002. 883 p.
13. Lones M.A., Czer L.S., Trento A., Harasty D., Miller J.M., Fishbein M.C. Clinical-pathologic features of humoral rejection in cardiac allografts: a study in 81 consecutive patients // *J Heart Lung Transplant.* 1995. V. 14 (1 Pt 1). P. 151–162.
14. Lunel F., Cadranet J.F., Rosenheim M. et al. Hepatitis virus infections in heart transplant recipients: epidemiology, natural history, characteristics, and impact on survival. *Gastroenterology.* 2000. V. 119 (4). P. 1064–1074.
15. Marcus G.M., Hoang K.L., Hunt S.A., Chun S.H., Lee B.K. Prevalence, patterns of development, and prognosis of right bundle branch block in heart transplant recipients // *Am J Cardiol.* 2006. V. 98 (9). P. 1288–1290.
16. Mills R.M., Naftel D.C., Kirklin J.K. et al. Heart transplant rejection with hemodynamic compromise: a multiinstitutional study of the role of endomyocardial cellular infiltrate. *Cardiac Transplant Research Database // J Heart Lung Transplant.* 1997. V. 16 (8). P. 813–821.
17. Ong J.P., Barnes D.S., Younossi Z.M. et al. Outcome of de novo hepatitis C virus infection in heart transplant recipients // *Hepatology.* 1999. V. 30 (5). P. 1293–1298.
18. Potena L., Holweg C.T., Chin C. et al. Acute rejection and cardiac allograft vascular disease is reduced by suppression of subclinical cytomegalovirus infection // *Transplantation.* 2006. V. 82 (3). P. 398–405.
19. Syeda B., Roedler S., Schukro C. et al. Transplant coronary artery disease: Incidence, progression and interventional revascularization // *Int J Cardiol.* 2005. V. 104 (3). P. 269–274.
20. Tanaka K., Li H., Curran P.J. et al. Usefulness and safety of percutaneous coronary interventions for cardiac transplant vasculopathy // *Am J Cardiol.* 2006. V. 97 (8). P. 1192–1197.
21. Tarantini G., Favaretto E., Gardin A. et al. Drug-eluting stents for the treatment of coronary lesions in cardiac transplant vasculopathy: acute and mid-term clinical and angiographic outcomes // *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2008. V. 9 (4). P. 396–402.
22. Taylor D.O., Edwards L.B., Boucek M.M. et al. The registry of international Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-first official adult heart transplant report – 2004 // *J art Lung Transplant.* 2004. V. 23 (7). P. 796–803.
23. Valantine H.A. The role of viruses in cardiac allograft vasculopathy // *Am J Transplant.* 2004. V. 4 (2). P. 169–177.
24. Wedemeyer H., Pethig K., Manns M.P., Boker K.H. Hepatitis B infection in heart transplant patients // *Gastroenterology.* 2001. V. 120 (5). P. 1311–1313.
25. Wellnhofer E., Hiemann N.E., Hug J. et al. A decade of percutaneous coronary interventions in cardiac transplant recipients: a monocentric study in 160 patients // *J Heart Lung Transplant.* 2008. V. 27 (1). P. 17–25.
26. Woo G.W., Schofield R.S., Pauly D.F. et al. Incidence, predictors and outcomes of cardiac pacing after cardiac transplantation: an 11-year retrospective analysis // *Transplantation.* 2008. V. 85 (8). P. 1216–1218.

ДИСФУНКЦИИ СИНУСОВОГО УЗЛА И ОСОБЕННОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НОРМАЛЬНОГО РИТМА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Шемакин С.Ю.

ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва
Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва

Проведен анализ восстановления нормальной функции синусового узла после трансплантации сердца. Определены сроки ожидания восстановления нормальной деятельности синусового узла при появлении его дисфункций. Предложено классифицировать дисфункции синусового узла по срокам появления на ранние (период функциональной адаптации пересаженного сердца в течение первого месяца после трансплантации) и поздние (постгоспитальный период), а также по степени устойчивости – транзиторные (временные) и персистирующие (постоянная форма).

Ключевые слова: трансплантация сердца, синусовый узел, дисфункции синусового узла

SINUS NODE DYSFUNCTIONS AND FEATURES OF NORMAL RHYTHM RESTORATION AFTER HEART TRANSPLANTATION

Shemakin S.Y.

Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow
Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow

There was an analysis restoration of sinus node normal function after heart transplantation. The terms mode restore normal activity of sinus node dysfunction with his appearance. It's offered to classify sinus node dysfunction in terms of the emergence on the early (the period of functional adaptation of transplanted heart during the first month after transplantation) and late (resulting in posthospital period), as well as on the stability degree – transient (temporary) and persistent (permanent form).

Key words: heart transplantation, sinus node, sinus node dysfunction

Скорейшее восстановление нормальной функции синусового узла (СУ) донорского сердца, его проводящей системы, является необходимым условием для поддержания адекватной насосной функции трансплантата [7]. Однако дисфункция СУ, возникающая после пересадки сердца, может осложнять течение посттрансплантационного периода [9]. Дисфункции СУ в посттрансплантационном периоде как правило проявляются синдромом слабости синусового узла (СССУ) и являются следствием его структурных повреждений, что характеризуется сочетанием клинических и электрокардиографических признаков, отражающих неспособность СУ

нормально выполнять функцию водителя ритма сердца и обеспечивать регулярное проведение импульсов к предсердиям. СССУ характеризуется определенными типами аритмий и блокад, включая остановку синусового узла, синусовую брадикардию, повторяющуюся синоатриальную блокаду, миграцию водителя ритма по предсердиям, эктопическую предсердную брадикардию, синдром брадикардии-тахикардии, ритм из атриовентрикулярного соединения [1, 2, 4, 5].

Повреждение СУ, приводящее к развитию СССУ после ТС, может происходить как на этапе кондиционирования донора, во время изъятия сердца, собс-

Статья поступила в редакцию 30.01.09 г.

Контакты: Шемакин Сергей Юрьевич, в. н. с. отделения коронарной хирургии и трансплантации сердца ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ. Тел. 8-903-519-99-22, e-mail: transpl@list.ru

твенно, во время операции трансплантации, так и явиться результатом осложнения посттрансплантационного периода [8].

Тромбоз или длительный спазм правой венечной артерии либо огибающей ветви левой коронарной артерии, от которых отходит артерия СУ, может осложниться некрозом последнего [5, 6]. Ишемические некрозы ткани СУ возможны при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания, а также при катехоламиновых кризах, наиболее вероятных в процессе кондиционирования потенциальных доноров сердца в период нестабильной гемодинамики. Кроме того, известно о повреждениях СУ при закрытых травмах грудной клетки вследствие контузии миокарда. Вероятно прямое повреждение СУ во время выполнения кардиохирургических операций, связанное с травматизацией зоны СУ. Изолированные повреждения СУ наиболее часто бывают следствием хронической ИБС, на долю которой приходится более половины случаев СССУ [3].

Так или иначе, вне зависимости от пускового механизма, СССУ вызван нарушением кровоснабжения СУ с развитием морфологических изменений в его структуре и неспособностью в последующем адекватно выполнять свою функцию.

В настоящей работе изучались особенности восстановления функции СУ пересаженного сердца и развития его дисфункций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализирована динамика восстановления функции СУ пересаженного сердца у 67 больных, перенесших ортотопическую трансплантацию сердца (ТС). Возраст больных – от 18 до 52 лет. Период наблюдения составил до 10 лет после ТС.

В интраоперационном, ближайшем послеоперационном и на госпитальном этапах функция СУ оценивалась в процессе рутинно выполняемого электрокардиографического (ЭКГ) контроля за деятельностью пересаженного сердца. ЭКГ в состоянии покоя регистрировали в 12 стандартных отведениях на аппарате «Megacart» фирмы Siemens (Германия). В отдаленном периоде после ТС дисфункция СУ выявлялась как при выполнении контрольной ЭКГ, так и при холтеровском мониторинге (ХМ ЭКГ). Запись суточной ЭКГ осуществлялась с помощью портативного монитора Medilog FD5 (США) на карту памяти Holter recorder. Анализ записи ЭКГ проводили на персональном компьютере при помощи кардиоанализирующей программы «Oxford instruments, 2000» с обязательным визуальным контролем.

Как правило, дисфункция СУ сопровождалась жалобами больных на слабость, эпизоды головокружения, кратковременную потерю сознания.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Динамика восстановления функции СУ пересаженного сердца

Урежение частоты сердечных сокращений (ЧСС) – менее 60 уд. в мин – расценивалось как проявление дисфункции синусового узла трансплантированного сердца.

У 82% пациентов, перенесших ортотопическую ТС, сразу же после восстановления сердечной деятельности в интраоперационном периоде определялся узловой ритм. В 18% случаев был синусовый ритм с нарушениями предсердно-желудочковой и внутрижелудочковой проводимости, полными и неполными блокадами ножек пучка Гиса, желудочковой экстрасистолией.

Для поддержания адекватной ЧСС пересаженного сердца у подавляющего большинства реципиентов (98%) проводили терапию симпатомиметическими препаратами, направленную на хронотропную и инотропную стимуляцию трансплантата. Однако, несмотря на это, к концу перфузионного периода 64% пациентов имели собственную ЧСС менее 50 уд. в мин, что являлось показанием к проведению электрокардиостимуляции, необходимость в которой у 48% больных сохранялась в течение 16–48 ч после операции.

К концу второй недели после ортотопической трансплантации сердца (ТС) устойчивый синусовый ритм с ЧСС более 80 уд. в мин наблюдали у 45 (67%) из 67 пациентов. Остальные 22 больных (33%), перенесших ТС, имели проявления брадиаритмических дисфункций СУ. У 10 из них (15%) устойчивый синусовый ритм восстановился только к концу третьей недели (20 ± 12 дней) после операции.

Через месяц после операции 55 пациентов (82%) имели нормальную функцию синусового узла с ЧСС более 80 уд. в мин. 12 пациентам (18%) с сохраняющимися упорными брадиаритмиями потребовалась имплантация постоянного искусственного водителя ритма.

Данный период, в течение первого месяца после ТС, следует расценивать как ожидаемое время восстановления нормальной функции синусового узла.

У 2 больных (3%) после имплантации электрокардиостимулятора (ЭКС) в режиме on demand отмечено отсроченное восстановление нормальной функции СУ соответственно через 3 и 4 мес. после ТС. В качестве иллюстрации приводим особенности восстановления нормальной функции СУ у больного С.

Больной С., 58 лет, поступил в НИИТиИО 16.12.91 с диагнозом «ишемическая болезнь сер-

дца (ИБС), хроническая аневризма передней стенки ЛЖ, постинфарктный кардиосклероз» (трансмуральный инфаркт миокарда передне-перегородочной области левого желудочка (ЛЖ) в 1979 г., повторный инфаркт миокарда в области задней стенки ЛЖ, третий инфаркт миокарда в 1985 г.). Стенокардия напряжения и покоя, функциональный класс (ФК) – IV. Недостаточность кровообращения (НК) – II Б. После клинического обследования в операции аортокоронарного шунтирования в сочетании с резекцией ЛЖ из-за неоправданно высокого риска отказано, в связи с чем больной включен в лист ожидания на трансплантацию сердца (ТС). 17.11.92 выполнена ортотопическая ТС по биатриальной методике. Послеоперационный период осложнился дисфункцией СУ с ЧСС от 51 до 72 уд. в мин и эпизодами урежения до 40 уд. в мин с клиникой головокружения. Отмечалась суправентрикулярная и желудочковая экстрасистолия, эпизоды трепетания предсердий. В течение двух месяцев проводилась терапия эуфиллином в сочетании с временной ЭКС. После проведения электрофизиологического исследования (ЭФИ) установлено время восстановления функции синусового узла (ВВ ФСУ) 1350 мсек. 15.01.93 имплантирован постоянный секвенциальный электрокардиостимулятор (ЭКС – 444) с частотой стимуляции 80 уд. в мин в режиме *on demand*. При контроле работы ЭКС с помощью суточного мониторирования ЭКГ регистрировалась секвенциальная работа ЭКС. Клиническая симптоматика (одышка, слабость, головокружения) отсутствовала.

Через 4 мес. при электрокардиографическом исследовании у больного выявлен устойчивый синусовый ритм с ЧСС 95 уд. в мин. В последующем на протяжении всего периода наблюдения в течение 6 лет при ХМ ЭКГ регистрировались редкие включения ЭКС только в ночное время.

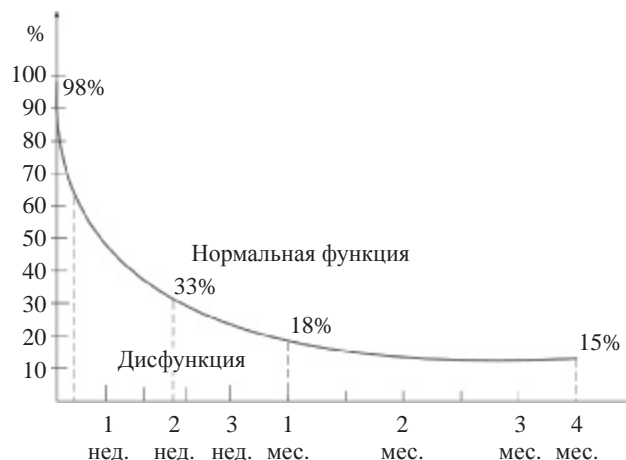
Через 3 мес. после операции ТС отмечено восстановление синусового ритма с ЧСС 90 уд. в мин. В настоящее время на ЭКГ правильный синусовый ритм с ЧСС более 85 уд. в мин, наблюдение продолжается.

Динамика восстановления нормальной функции СУ трансплантированного сердца представлена на рисунке.

Таким образом, через 4 мес. после ТС уже 85% пациентов с пересаженным сердцем имели нормальную функцию СУ.

Дисфункции СУ пересаженного сердца

Ретроспективный анализ результатов динамического наблюдения за пациентами после ТС с использованием ЭКГ, ХМ ЭКГ позволил выделить следующие варианты дисфункций синусового узла (ДФСУ).



Динамика восстановления нормальной функции СУ пересаженного сердца

Ранние дисфункции, которые проявлялись в течение первого месяца после пересадки, т. е. в ожидаемый период восстановления нормальной функции СУ (период функциональной адаптации), были выявлены в нашем исследовании у 22 пациентов, что составило 33% от общего числа перенесших ТС.

Поздние, или отсроченные ДФСУ, выявлены у 9 больных (13%), у которых временная или постоянная форма брадиаритмий возникала в значительно более поздние сроки после исходного восстановления нормальной функции СУ, как правило, ближе к концу первого года и больше года после ТС.

Как ранние, так и поздние ДФСУ расценивались как транзиторные, если восстановление стабильного синусового ритма с частотой более 60 уд. в мин на фоне применения препаратов с положительным хронотропным действием (эуфиллин до 300 мг/сут, тербуталин до 2,5 мг/сут) или временной электрокардиостимуляции происходило самопроизвольно.

Если восстановление устойчивого ритма с ЧСС более 60 уд. в мин не наблюдалось или были отмечены кратковременные периоды восстановления синусового ритма, однако при отмене поддерживающей терапии хронотропными средствами вновь определялись признаки ДФСУ, такая дисфункция определялась как персистирующая. Ранняя транзиторная ДФСУ наблюдалась у 10 больных (15%).

Пример ранней транзиторной ДФСУ.

Больная С., 25 лет, поступила в клинику с диагнозом «дилатационная кардиомиопатия». ФК – IV, НК – 2 Б, статус 1 В по UNOS. После обследования по программе потенциального реципиента включена в лист ожидания на трансплантацию сердца. 27.04.04 больной выполнена ортотопическая ТС. Ближайший послеоперационный период протекал с явлениями дисфункции СУ с ЧСС менее 60 уд. в мин. Требовалась временная ЭКС в течение пер-

вых 14 сут после ТС. В последующем продолжено лечение тербуталином (2,5 мг/сут). На 21-й день проведена пульсгормональная терапия (солюмедрол 250 + 500 + 500 мг) в связи с острым клеточным отторжением 2–3 А, подтвержденным эндомиокардиальной биопсией, криз купирован. На 23-и сут после ТС выявлена нормализация ЧСС – восстановилась нормальная функция СУ с ЧСС, по данным ЭКГ, 96–100 уд. в мин.

Больная выписана в удовлетворительном состоянии через 3 мес. после ТС.

Ранняя персистирующая ДФСУ отмечалась у 12 больных (18%). Приводим пример ранней персистирующей ДФСУ.

Больной Х., 39 лет, поступил в НИИТиИО с диагнозом «ИБС. Постинфарктный кардиосклероз. Ишемическая кардиомиопатия». НК – II Б. Стенокардия напряжения, ФК – 3. После клинического обследования больной включен в лист ожидания на ТС. 26.10.95 выполнена ортотопическая ТС по биатриальной методике. Переведен из отделения реанимации через 7 сут с сохраняющейся ДФСУ, в связи с чем в течение 13 последующих суток проводилась временная электрокардиостимуляция. Через 14 сут после ТС больному выполнена имплантация постоянного водителя ритма на фоне сохраняющегося СССУ, проявляющегося остановкой СУ. ЭКС 520 М навязан с ЧСС 90 уд. в мин. За период нахождения в клинике выполнено 5 эндомиокардиальных биопсий, реакций отторжения не было. За время наблюдения 3 года и 6 мес. на контрольных ЭКГ ритм навязан ЭКС с ЧСС 90 уд. в мин.

Поздняя транзиторная ДФСУ наблюдалась нами в разные сроки после операции у 6 больных.

Наиболее типичным примером является история болезни больной К.

Больная К., 19 лет, поступила в клинику с диагнозом «дилатационная кардиомиопатия». ФК – IV, НК – II Б. После обследования больная включена в лист ожидания, и 26.03.92 ей была выполнена ортотопическая ТС. С третьего года после трансплантации при ХМ ЭКГ начали выявляться нарушения функции СУ, проявлявшиеся эпизодами синусовой брадикардии с ЧСС до 40 уд. в мин преимущественно в ночное время. Нарушение функции СУ носило транзиторный характер, не сопровождалось клинической симптоматикой, и при повторном ХМ ЭКГ через неделю наблюдалось восстановление стабильного синусового ритма с ЧСС более 60 уд. в мин. В последующем эпизоды синусовой транзиторной брадикардии эпизодически регистрировались в течение 5, 7 и 8-го года после ТС на фоне выявленной с 5-го года и подтвержденной ангиографическим исследованием болезни коронарных артерий. За весь период

наблюдения, превышающий 8 лет, ДФСУ имела преходящий характер и не требовала специфического лечения.

У остальных больных поздняя транзиторная ДФСУ наблюдалась в сроки через 10, 12, 15 мес., 3 и 4 года после ТС и проявлялась синусовой брадикардией, периодами миграции ритма по предсердиям и у одного больного – синусовыми паузами.

Поздняя персистирующая дисфункция СУ в нашем наблюдении развилась у 3 пациентов – через 10 мес., 2 года и 8 лет после ТС соответственно.

Больной Ч., 40 лет, находился на обследовании и лечении в НИИТиИО с диагнозом «дилатационная кардиомиопатия». НК – II Б. 19.12.91 больному выполнена ортотопическая ТС. Послеоперационное течение и реабилитация без особенностей. В январе 1998 г. при плановом ангиографическом исследовании выявлена БКА, в связи с чем выполнена ангиопластика передней межжелудочковой артерии (ПМЖВ) и правой коронарной артерии. В дальнейшем повторные ангиопластики ПМЖВ от 14.11.00, 3.07.01, 4.09.01. С 2.04.02 у больного впервые появились синкопальные эпизоды с приступами Морганьи–Эдэмса–Стокса (МЭС). На ЭКГ – ритм синусовый, ЧСС – 90 уд. в мин. Полная блокада ПНПГ и передней ветви ЛНПГ. Отрицательные зубцы Т в отведениях V4 – V6. При ХМ ЭКГ выявлены периоды синусовой брадикардии с паузами до 2,4 с. 3.06.02 больному имплантирован постоянный водитель ритма с ЧСС 80 уд. в мин.

У второго больного необходимость в имплантации постоянного водителя ритма была обусловлена развитием ДФСУ через 2 года на фоне длительного лечения послеоперационного синегнойного остеомиелита и у третьего больного – на 10-м мес. после ТС на фоне острого персистирующего криза отторжения.

Представленные данные показывают, что у подавляющего числа больных (82%) восстановление адекватной работы СУ после ТС происходит в течение первого месяца после операции, т. е. в период функциональной адаптации пересаженного сердца. У 3% возможно отсроченное восстановление функции СУ, в сроки до трех месяцев после трансплантации.

У оставшихся 15% пациентов в раннем периоде сохраняется стойкая ДФСУ, характеризующаяся СССУ, с необходимостью имплантации ЭКС.

В отдаленном посттрансплантационном периоде также возможно появление как временных ДФСУ, так и устойчивых, приводящих к необходимости имплантации искусственного водителя ритма и являющихся, как правило, следствием возникновения других осложнений пересаженного сердца, характерных для отдаленного периода.

Таким образом, ДФСУ пересаженного сердца следует классифицировать как по времени возникновения – ранние или поздние ДФСУ, – так и по степени устойчивости последних, т. е. транзиторные (преходящие) или персистирующие (постоянные) ДФСУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кушаковский М.С. Аритмии сердца. Общая характеристика дисфункций синусового узла, классификация: Руководство для врачей. СПб.: Фолиант, 2004. С. 439–440.
2. Шумаков В.И., Кормер А.Я., Казаков Э.Н. и др. Некоторые аспекты электрофизиологии пересаженного сердца. Трансплантология и искусственные органы. 1996. С. 5–13.
3. Шумаков В.И., Кормер А.Я., Казаков Э.Н. и др. Дисфункция синусового узла после трансплантации сердца // Кардиология. 1994. № 1. С. 29–32.
4. Трансплантация сердца: Руководство для врачей / Под ред. академика В.И. Шумакова. М., 2006. С. 193–209.
5. Яковлев Г.М., Ардашев В.Н., Богословский В.Е. и др. Особенности клинической картины ишемической болезни сердца, осложненной синдромом слабости синусового узла, и вопросы прогнозирования синкопальных состояний // Кардиология. 1988. Т. 28. № 2. С. 20–24.
6. Bexton R.S., Natan A.W., Hellestrand K.J. et al. The electrophysiologic characteristic of the transplanted human heart // Am. Heart J. 1984. V. 107. № 1. P. 1–7.
7. Heinz G., Ohner T., Jaelfer G. et al. Clinical and electrophysiologic correlates of sinus node distinction after orthotopic heart transplantation observation in 42 patients // Chest. 1990. V. 97. P. 890–895.
8. Kirklin J.K., McGriffin J.D., Yong J.B. Heart transplantation. 2002. 883 p.
9. Wnuk-Wojnar A.-M., Zembala M., Religa Z. et al. Electrophysiologic properties of transplanted human heart with find without rejection // J. Heart-lung transplant. 1992. V. 11. № 3. P. 435–441.

НЕДОСТАТОЧНОСТЬ ТРИКУСПИДАЛЬНОГО КЛАПАНА ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Шемакин С.Ю.^{1,2}, Халилулин Т.А.^{1,2}, Федосеева А.А.¹

¹ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

²Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва

Выполнена сравнительная оценка появления трикуспидальной недостаточности различной степени тяжести в посттрансплантационном периоде в зависимости от метода пересадки сердца.

Показана зависимость развития трикуспидальной недостаточности до 1-й ст. от уровня транс-пульмонального градиента, являющегося интегральным показателем степени легочной гипертензии у реципиентов и не меняющегося на протяжении всего посттрансплантационного периода.

Трикуспидальная недостаточность 2–3-й ст. в нашем исследовании выявлялась, как правило, в отдаленные сроки после трансплантации сердца и была следствием какого-либо осложнения посттрансплантационного периода.

Ключевые слова: трансплантация сердца, трикуспидальная недостаточность

TRICUSPID VALVE DYSFUNCTION AFTER ORTHOTOPIC HEART TRANSPLANTATION

Shemakin S.Y.^{1,2}, Khalilulin T.A.^{1,2}, Fedoseeva A.A.¹

¹Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

²Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow

There's an estimation of tricuspid dysfunction detection of various degrees in posttransplant period depending on operation technique.

The article presents the dependence of development tricuspid dysfunction up to 1 st. degree from the level of transpulmonary gradient, which is integrated index of pulmonary hypertension level and which doesn't change over posttransplant period.

In this research tricuspid dysfunction of 2–3 degrees most frequently detected in the remote period after heart transplantation or was the result of any posttransplant complication.

Key words: heart transplantation, tricuspid valve dysfunction

Появление недостаточности трикуспидального клапана – одно из осложнений посттрансплантационного периода. Причина этого кардиально-осложнения не до конца ясна. Выдвигаются различные гипотезы ее возникновения: влияние метода, по которому выполнена трансплантация сердца [4, 5], увеличение камеры правого предсердия после ТС, предшествующая ЛГ [6], миокардиальный отек в первые сутки после ТС, недостаток перикардиального каркаса, приводя-

щего к деформации клапанного кольца, разрыв хорд трикуспидального клапана при выполнении эндомикардиальных биопсий (ЭМБ) [7] либо вследствие бактериального эндокардита, обусловленного инфицированием вследствие частых ЭМБ [1–3, 8, 9].

В данной работе выполнена ретроспективная оценка факторов, влияющих на развитие недостаточности трикуспидального клапана в посттрансплантационном периоде.

Статья поступила в редакцию 26.02. 09 г.

Контакты: Шемакин Сергей Юрьевич, в. н. с. отделения коронарной хирургии и трансплантации сердца ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ. Тел. 8-903-519-99-22, e-mail: transpl@list.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения причин развития трикуспидальной недостаточности (ТН) в посттрансплантационном периоде обследованы 60 пациентов после ТС в сроки до 10 лет. После операции изучалась зависимость развития ТН от метода ТС, гемодинамики малого круга кровообращения, в частности уровня транспульмонального градиента (ТПГ), и наличия ЛГ.

39 пациентов оперированы по традиционной биатриальной методике, четверо пациентов перенесли операцию по бикавальной методике, и 17 пациентов – по модифицированной биатриальной методике. Во всех случаях состояние клапанного аппарата и степень транстрикуспидального потока оценивали с помощью цветной доплерэхокардиографии (Power vision – 380А фирма Toshiba (Япония) и Aloka 870 (Япония)).

Для статистической обработки полученных данных использован стандартный набор программ для ПК Statistica 6.0 Microsoft Excel. Для оценки факторов риска использован показатель «относительный риск» (RR). Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Зависимость степени ТН от метода выполненной трансплантации сердца представлена в табл. 1.

Таблица 1

Степень ТН в зависимости от метода ТС

Хирургическая методика	0-я ст. ТН	1-я ст. ТН	2–3-я ст. ТН
Биатриальная методика n = 39	24 (61%)	10 (26%)	5 (13%)
Бикавальная методика n = 4	4 (100%)		
Модифицированная методика n = 17	10 (59%)	5 (29%)	2 (12%)
Всего n = 60	38 (63%)	15 (25%)	7 (12%)

Из представленной таблицы видно, что отсутствие ТН после ортотопической ТС (степень – 0) выявлено более чем у половины пациентов, перенесших пересадку ТС (63%).

У больных, оперированных по традиционной биатриальной методике, отсутствие ТН подтверждено в 61% случаев, и в 59% случаев среди пациентов, оперированных по модифицированной атриальной методике.

Отсутствие ТН у больных, оперированных по бикавальной методике, подтверждено во всех случаях,

хотя адекватная оценка в данной группе больных затруднительна из-за малого числа наблюдений.

Недостаточность 1-й степени выявлена в 25% от общего числа больных, в то время как в группе больных, оперированных по биатриальной методике, она встречалась в 26% случаев, и среди оперированных по модифицированной методике – в 29% случаев.

ТН 2–3-й степени развивалась, как правило, в отдаленные сроки после трансплантации (более 1 года) и была выявлена у 12% оперированных больных; у пациентов, оперированных по биатриальной методике, – в 13% и оперированных по модифицированной биатриальной методике – в 12%.

Каких-либо различий в частоте развития трикуспидальной недостаточности между группами оперированных больных по биатриальной и модифицированной методикам не получено.

ТН 1-й ст., выявленная у 15 больных после ТС, не являлась гемодинамически значимой, не влияла на качество жизни пациентов, что не требовало хирургической коррекции или какого-либо специфического лечения за весь период наблюдения после пересадки сердца в сроки до 10 лет. У 6 пациентов из этой группы недостаточность трикуспидального клапана могла объясняться наличием проведенного через него эндомикардиального электрода. У остальных 9 пациентов четкую взаимосвязь с какой-либо причиной, объясняющей наличие ТН, выявить не удалось. В данном случае не исключена вероятность влияния хирургических аспектов на появление легкой ТН, таких как увеличение камеры правого предсердия, неравные размеры сердца донора и реципиента, изменение физиологической конфигурации правого предсердия в случае выполнения ТС по биатриальным методикам, недостаток перикардиального каркаса, приводящий к деформации клапанного кольца, и др.

Появление гемодинамически значимой ТН 2–3-й степени выявлено нами у 7 пациентов в отдаленные сроки после пересадки (от 1 года до 10 лет) и объяснялось различными осложнениями посттрансплантационного периода.

Так, у больной М., 20 лет, недостаточность 3-й ст. развилась через 1 год после операции вследствие развития бакэндокардита трикуспидального клапана (ТК), индуцированного электродом ЭКС. У больного М., 35 лет, и больной С., 52 года, недостаточность ТК 2–3-й ст. объяснялась дислокацией желудочкового электрода имплантированного ранее ЭКС. У двух больных (Л., 20 лет, и Н., 54 года) ТН 2–3-й ст. появилась после перенесенного обширного инфаркта миокарда задней локализации на фоне болезни коронарных артерий (БКА) соответственно на 5-й и 8-й год после ТС.

Таблица 2

Относительный риск (RR) и отношение шансов (ODDS-ratio) развития ТН после ТС у пациентов с повышенным уровнем ТПГ

Фактор риска	RR (95% доверительный интервал)	ODDS ratio (95% доверительный интервал)	Уровень значимости, (p, Фишер)
ТПГ ≥ 5	6,44 (3,14; 8,45)	13,75 (5,84; 16,49)	p = 0,0055

Отсутствие ТН в посттрансплантационном периоде в нашем исследовании отмечено у 63% больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление легкой степени ТН (1-я) у 25% больных, перенесших ТС, может объясняться различными причинами или их сочетанием: предтрансплантационной ЛГ, нарушением нормальной анатомической геометрии предсердий пересаженного сердца у оперированных по биатриальным методикам и др. При отсутствии кардиальных и экстракардиальных осложнений после ТС недостаточность трикуспидального клапана не прогрессировала и не влияла на качество жизни реципиентов в течение всего периода наблюдения.

ТН средней степени тяжести и тяжелая (2–3-я степень) наблюдалась у 12% больных после пересадки, выявлялась, как правило, в отдаленные сроки после операции, проявляясь клиническими признаками сердечной недостаточности на фоне различных сопутствующих осложнений посттрансплантационного периода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

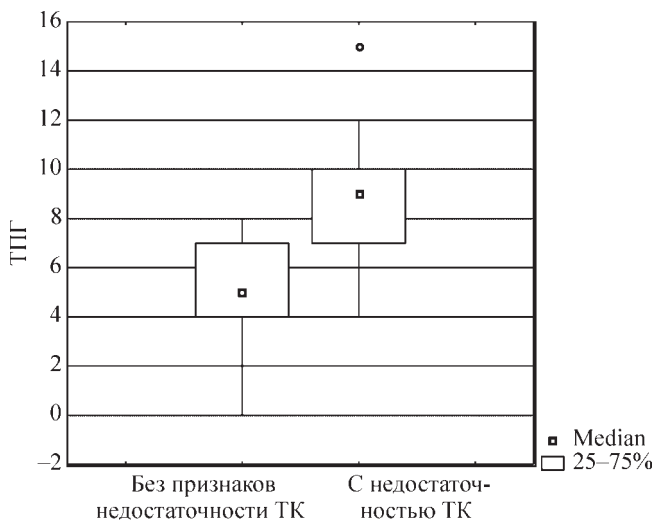
1. *Шемакин С.Ю., Кормер А.Я., Честухин В.В., Хубутия М.Ш.* Нормальная и патологическая физиология пересаженного сердца. Трансплантация сердца: Руководство для врачей / Под ред. В.И. Шумакова. М., 2006. С. 193–211.
2. *Шумаков В.И., Кормер А.Я., Казаков Э.Н., Хубутия М.Ш. и др.* Клиническая физиология пересаженного сердца: Очерки по физиологическим проблемам трансплантологии и применения искусственных органов. М., 1998. С. 9–33.
3. *Chen R.J., Wei J., Chang C.Y.* Tricuspid valve regurgitation and endomyocardial biopsy after orthotopic heart transplantation. *Transplant Proc.* 2008. V. 40 (8). P. 2603–2606.
4. *Fiorelli A.I., Abreu Filho C.A. et al.* Cardiac transplantation with bicaval anastomosis and prophylactic graft tricuspid annuloplasty // *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2008. V. 23 (1). P. 7–13.
5. *Grande A.M., Gaeta R, Campana C. et al.* Comparison of standard and bicaval approach in orthotopic heart

У двух больных относительная ТН 2–3-й ст. появилась на 10-й год после ТС, на фоне проведения химиотерапевтического лечения онкологических заболеваний.

Таким образом, в нашем исследовании гемодинамически значимая недостаточность трикуспидального клапана 2–3-й ст. пересаженного сердца выявлялась в отдаленные сроки после операции и была связана с различными осложнениями посттрансплантационного периода. У нормально функционирующего пересаженного сердца при отсутствии острого отторжения, других кардиальных осложнений, тяжелых сопутствующих заболеваний ТН не превышала 1-ю ст.

Нами было выполнено исследование влияния предсуществующей ЛГ на развитие ТН пересаженного сердца в зависимости от уровня ТПГ.

Зависимость степени ТН от предтрансплантационного показателя ТПГ (мм рт. ст.) представлена на рисунке.



Медиана ТПГ (мм рт. ст.) у пациентов с признаками ТН и без таковой

Как видно из рисунка, группы пациентов с признаками ТН и без нее существенно различаются (p = 0,0055 по Манна–Уитни). С ростом уровня ТПГ резко возрастают риски и шансы развития ТН. При этом у пациентов с нормальными показателями ТПГ данная патология встречается достоверно реже. Пограничным значением для развития ТН является уровень ТПГ, превышающий 5 мм рт. ст. Относительный риск и отношение шансов развития трикуспидальной недостаточности после ТС у пациентов с повышенным уровнем ТПГ представлены в табл. 2.

У пациентов с ТПГ, превышающим 5 мм рт. ст., риск появления ТН в 5 раз выше, чем у пациентов с нормальными показателями ТПГ.

- transplantation: 10-year follow-up. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2008. V. 9 (5). P. 493–497.
6. *Liu M.Z., Wang J.H., Du J., Huang J., Li L.H.* Impact of pulmonary hypertension on early hemodynamics after orthotopic heart transplantation // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007. V. 87 (37). P. 2618–2622.
 7. *Lo C.Y., Chang H.H., Hsu C.P. et al.* Endomyocardial biopsy-related tricuspid regurgitation after orthotopic heart transplantation: single-center experience // *J Chin Med Assoc*. 2007. V. 70 (5). P. 185–192.
 8. *Sun J.P., Niu J., Banbury M.K., Zhou L., Taylor D.O. et al.* Influence of different implantation techniques on long-term survival after orthotopic heart transplantation: an echocardiographic study // *J Heart Lung Transplant*. 2007. V. 26 (12). P. 1243–1248.
 9. *Wong R.C., Abrahams Z., Hanna M. et al.* Tricuspid regurgitation after cardiac transplantation: an old problem revisited // *J Heart Lung Transplant*. 2008. V. 27 (3). P. 247–252.

ПРИМЕНЕНИЕ ПЛАЗМАФЕРЕЗА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЕЗНИ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ ПЕРЕСАЖЕННОГО СЕРДЦА И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ

Мебония Н.З., Морозов Б.Н., Остроумов Е.Н., Куприянова А.Г., Максимова Н.А.

ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

В работе представлен опыт применения плазмаферезов в лечении БКА наряду с медикаментозной терапией. 19 реципиентам в разные сроки после трансплантации сердца с БКА, подтвержденной ангиографически, проводили курсы лечебного плазмафереза. Эффективность последнего оценивали радиоизотопными, иммуноморфологическими и лабораторными методами. После проведенного курса отмечались увеличение региональной и локальной сократимости миокарда, рост ФВ левого желудочка, снижение внутрисердечной асинхронии, разрешение иммунокомплексного синдрома и отсутствие локального внутрисосудистого свертывания крови. Плазмаферез рассматривается как перспективный метод воздействия на факторы, способствующие ускоренному характеру развития поражения коронарных артерий в трансплантированном сердце.

Ключевые слова: трансплантат сердца, болезнь коронарных артерий (БКА), плазмаферез (ПФ), сцинтиграфия миокарда, иммунокомплексный синдром

THE USE OF PLASMAPHERESIS IN THE TREATMENT OF CORONARY ARTERY DISEASE OF TRANSPLANTED HEART AND EVALUATION OF ITS EFFECTIVENESS

Meboniya N.Z., Morozov B.N., Ostroumov E.N., Kupriyanova A.G., Maksimova N.A.

Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

The paper presents the experience with plasmapheresis in the treatment of coronary artery disease with drug therapy. 19 recipients at different time after cardiac transplantation with coronary artery disease confirmed by angiography were treated by therapeutic plasmapheresis courses. The effectiveness was estimated by radioisotope, immunomorphological and laboratory methods. After the course there were increase of regional and local myocardium contractility, increase in left ventricle ejection fraction, reducing intraventricular asynchrony, permission immunocomplex syndrome and lack of local intravascular blood coagulation. Plasmapheresis is considered as a promising method for the impact on the factors contributing to the accelerated nature of the development of coronary arteries lesions in transplanted heart.

Key words: transplanted heart, coronary artery disease, plasmapheresis, myocardium scintigraphy, immunocomplex syndrome

Развитие коронарной ангиопатии сердечного аллотрансплантата – болезнь коронарных артерий, является одной из главных причин повреждения донорского сердца, определяющей степень дисфункции миокарда и прогноз жизни у реципиентов.

Патогенез данного заболевания многофакторный и включает несовместимость по HLA-антигенам в паре «донор–реципиент», острые кризы гуморального и клеточного отторжения, воздействие иммуносупрессивных агентов, обменные нарушения (ги-

Статья поступила в редакцию 2.02.09 г.

Контакты: Мебония Нана Зауровна, врач-кардиолог отд. трансплантационной терапии ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ. Тел. (499) 190-38-67, e-mail: rotpr2506@yandex.ru

перлипидемия), нарушение свертывающей системы крови, вирусную инфекцию и т. д. Однако тот факт, что диффузное поражение развивается только в коронарных артериях донорского сердца, говорит в пользу иммунной природы заболевания [2].

В патогенезе хронического отторжения и развития болезни сосудов трансплантата основную роль играют гуморальные атаки, активирующие эндотелий сосудов и перманентно раздражающие свертывающую систему крови, что приводит к диффузным изменениям дистального русла коронарных артерий с последующей дисфункцией миокарда.

Основным методом оценки состояния пересаженного сердца остается коронарная ангиография. Наиболее значимым методом диагностики гуморального отторжения является оценка эндомиокардиальных биоптатов (ЭМБ) с помощью иммуногистохимического метода. Для оценки функционального состояния пересаженного сердца широко применяются радиоизотопные методы исследования. По данным выполненных в институте работ, обнаружена высокая корреляция между региональной асинхронией сердца и клиническими проявлениями сердечной недостаточности [3, 4]. Целью работы является и оценка эффективности применения курса лечебных плазмаферезов в лечении болезни коронарных артерий трансплантата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемая группа состоит из 19 реципиентов в возрасте от 24 до 65 лет, которым выполнена ортотопическая трансплантация сердца. Срок наблюдения – от 1 года до 10 лет. После трансплантации диагностирована болезнь коронарных артерий по данным коронарографии.

Все пациенты находились на трехкомпонентной иммуносупрессивной терапии, состоящей из преднизолона, неорала, селлсепта. Концентрация циклоспорина в пределах 110–125 нг/мл.

Плазмаферез (ПФ) включен в комплексное лечение данной категории больных с целью снижения иммунной агрессии к трансплантату, улучшения тканевого кровотока и предупреждения развития локального внутрисосудистого свертывания крови.

Обследование проводилось согласно протоколу, включающему: 1) лабораторные анализы – особое внимание уделялось показателям свертывающей системы крови и липидограмме; 2) инструментальные данные – ЭКГ, ЭХО-КГ; стресс-тест и/или холтеровское мониторирование ЭКГ; 3) перфузионную томосцинтиграфию и радионуклидную вентрикулографию – для оценки функциональной способности миокарда; 4) коронаровентрикулографию; 5) эндомиокардиальную биопсию.

Радионуклидные исследования выполняли с помощью гамма-камеры BASICAM (Siemens) и отечественной системы сбора и обработки информации фирмы ГОЛД-РАДА (метка *in vivo*, перфотех и пертехнитат, доза 370 мБк). Определяли конечно-диастолический (КДО), конечно-систолический (КСО) объемы, фракции выброса левого желудочка сердца. Региональную функцию миокарда оценивали с помощью параметрических изображений с выделением 8 сегментов в каждом желудочке. Исследования проводились до и после плазмафереза.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным коронарографии и перфузионной томосцинтиграфии миокарда, до проведения плазмаферезов отмечалось ухудшение функционального состояния трансплантата в сочетании с иммуноморфологическими и иммуногистохимическими признаками отторжения гуморального типа.

По данным иммуноморфологического исследования, в тканях ЭМБ у значительного числа пациентов отмечали набухание эндотелия капилляров и артериол, отек миокарда, лизис части кардиомиоцитов (КМЦ) с гипертрофией ядер. У большинства больных выявляли выраженную фиксацию иммуноглобулинов и компонентов комплемента в зоне сарколеммы кардиомиоцитов и в интима мелких, интрамуральных артерий. В большинстве случаев выявлено значительное количество фибринового преципитата в просвете капилляров и артериол миокарда, что является признаком дисфункции микроциркуляторного русла и косвенным признаком хронического отторжения. Также по данным лабораторных исследований были выявлены коагулопатические нарушения в виде увеличения количества тромбоцитов с повышением их индуцированной агрегации, увеличения концентрации фибриногена и содержания растворимых комплексов фибринономеров. Следует отметить, что коагулопатические изменения предшествовали появлению клинических симптомов. У 60% пациентов выявлено повышение исходного уровня общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП и индекса атерогенности.

До начала лечения, по данным радионуклидной вентрикулографии, отмечалась систолическая внутрижелудочковая асинхрония ЛЖ > 60 мс (при норме ≤ 45), снижение параметров ФВ ЛЖ, увеличение КСО. Проба с нитроглицерином приводила к снижению ФВ и нарастанию (утяжелению степени) асинхронии левого желудочка.

На коронарограммах гемодинамически значимые стенотические поражения коронарных артерий отсутствовали, отмечена извитость и диффузные изменения дистального русла, а также замедление смыва контрастного вещества (6–8 и более циклов),

что является косвенным признаком дисфункции микроциркуляторного звена.

В течение года пациентам выполнялось 2–3 курса ПФ, включающих в среднем 3–4 процедуры. Плазмаферезы выполняли с интервалом 3–4 дня с эксфузией 70–80% должного объема циркулирующей плазмы (ОЦП) за одну операцию. Скорость эксфузии плазмы 15 мл/мин. Замещение осуществлялось 5% раствором альбумина и свежезамороженной донорской плазмой. Курсы ПФ повторялись в среднем через 4–6 мес. и сочетали с антикоагулянтной (низкомолекулярными гепаринами) и дезагрегационной терапией.

Количество плазмаферезов за 1 курс подбиралось индивидуально и определялось динамикой заболевания и эффективностью терапии.

На фоне проводимой терапии обнаружены статистически значимые изменения гемодинамических показателей.

У всех реципиентов исследуемой группы после проведенного курса лечебного плазмафереза на радионуклидной вентрикулографии наблюдалось снижение систолической внутрижелудочковой асинхронии ЛЖ (38 ± 23), уменьшение КСО (32 ± 9), увеличение ФВ ЛЖ (67 ± 6), прирост ФВ ЛЖ в ответ на прием нитроглицерина (достоверный рост ФВ ЛЖ сопровождается уменьшением КСО). Это заставляет думать о том, что в результате плазмафереза повысилась сократимость миокарда ЛЖ (табл. 1). Со стороны локальных изменений функции миокарда выросла региональная ФВ верхушки миокарда и снизилась внутрижелудочковая асинхрония, что, в свою очередь, может объяснять повышение сократимости миокарда ЛЖ.

По данным перфузионной томосцинтиграфии миокарда, до проведения плазмафереза отмечалось снижение локальной перфузии и нарушение диастолической функции миокарда, которая усугублялась после приема нитроглицерина. Фракция выброса варьировала от 44 до 54%.

На контрольной перфузионной томосцинтиграфии миокарда после лечения визуализировалось улучшение региональной перфузии миокарда и восстановление диастолической функции с увеличением фракции выброса ЛЖ.

По данным ЭМБ, фибриновый преципитат выявлен лишь в единичных капиллярах в незначительном

Таблица 1

Показатели функции миокарда у реципиентов, прошедших курс программного плазмафереза (p < 0,05, n = 15)

Показатели функции миокарда	До	После	p
Фракция выброса левого желудочка (%)	49 ± 6	67 ± 6	0,008
Объем левого желудочка в диастолу (мл)	96 ± 27	98 ± 18	0,27
Объем левого желудочка в систолу (мл)	39 ± 15	32 ± 9	0,018
Фракция выброса верхушки левого желудочка (%)	55 ± 10	68 ± 15	0,045
Асинхрония сегментов левого желудочка (мс)	64 ± 33	38 ± 23	0,035

количестве, в большинстве ЭМБ он отсутствует. Отмечено значительное уменьшение фиксации иммуноглобулинов и компонентов комплимента в тканях миокарда, вплоть до полного их исчезновения.

По данным лабораторных исследований наблюдали уменьшение количества тромбоцитов со сниженной индуцированной агрегацией, нормализацию уровня фибриногена и РКФМ, снижение показателей общего холестерина, ЛПНП, триглицеридов и индекса атерогенности (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Болезнь коронарных артерий (БКА) следует рассматривать как иммуноопосредованное состояние, суть которого заключается в первичном воздействии иммунных комплексов на сосудистый эндотелий с развитием локального внутрисосудистого свертывания крови, приводящего к нарушению функции трансплантата. Облитерирующий атеросклероз коронарных артерий мелкого и среднего калибров развивается в результате иммунного воспаления с преимущественным поражением внутренней оболочки артерий и ведет к ишемическим изменениям миокарда с высоким риском развития его инфаркта из-за отсутствия стенокардических болей в связи с денервацией сердца и к внезапной смерти [7].

В соответствии с классификацией Gao et al. (1998) изменения коронарных артерий транспланта-

Таблица 2

Лабораторные показатели у реципиентов, прошедших курс программного плазмафереза

	Колич. тромб.	Агрегация тромб. с ринтомицином	V-агрегации, % мин	Фибриноген (мг/л)	РКФМ (мг%)	Об. холестерин, ммоль/л	Триглицериды, моль/л	ХЛПНП, ммол/л	ХЛПВП, ммол/л	Индекс атерогенности
Норма	180–320	25–40%	10–18	2000–4000	3,5–5,0	3,5–5,5	1,7–2,23	3,4–4,1	0,91–2,07	4,0–4,5
До ПФ	315 ± 28	72 ± 13	28 ± 7,0	4600 ± 500	16,0 ± 5,5	8,5 ± 1,6	5,0 ± 1,2	3,6 ± 0,8	1 ± 0,6	4,6 ± 1
После ПФ	200 ± 10	38 ± 3	14 ± 2,4	3600 ± 200	3,5 ± 0,5	4,7 ± 1,3	2,3 ± 0,8	3,4 ± 0,6	1,9 ± 0,4	3,4 ± 1,2

та делятся на 4 типа, где тип А подразумевает дискретные и множественные стенотические поражения проксимальных и средних отделов артерии, а типы В1, В2 и С – диффузные изменения дистального отдела с облитерацией конечных ветвей.

У пациентов с васкулопатией пересаженного сердца чаще встречаются тип В (подтипы В1 и В2) и тип С. Показанием для проведения коронарной ангиопластики является тип А, т. е. поражения с проксимальным стенозированием просвета сосуда более 75% (5).

Учитывая тот факт, что при поражениях коронарных артерий по типу В и С проведение баллонной ангиопластики со стентированием невозможно и медикаментозное лечение малоэффективно, с целью улучшения микроциркуляции и сохранения функциональной способности трансплантата многие зарубежные авторы предлагают применение эфферентных методов лечения, в частности плазмаферез [9].

Учитывая опыт применения плазмафереза при аутоиммунных заболеваниях и при лечении коагулопатий, мы используем этот метод как для лечения кризов отторжения, так и для профилактики и лечения БКА трансплантата.

Удаление из кровотока цитотоксических антител и фибринового преципитата из микроциркуляторного русла, устранение гиперлипидемии, восстановление и нормализация гемокоагуляционных и реологических свойств крови приводит к улучшению микроциркуляции и к снижению степени хронической ишемии сердечного трансплантата. Это позволяет рассматривать плазмаферез как перспективный метод воздействия на факторы, способствующие ускоренному характеру развития поражения коронарных артерий в трансплантированном сердце, и, следовательно, направленный на увеличение сроков его функциональной состоятельности.

У реципиентов сердца после плазмафереза достоверный рост фракции выброса ЛЖ за счет уменьшения прежде всего КСО объясняется увеличением сократимости миокарда. Это происходит на фоне увеличения региональной фракции выброса верхушки ЛЖ и достоверного снижения систолической внутривентрикулярной асинхронии ЛЖ. Программный плазмаферез способствует улучшению сократимости миокарда ЛЖ в результате положительного влияния процедуры на кровообращение в дистальном отделе коронарного русла – основном месте развития иммуноморфологических проявлений гуморальной реакции отторжения.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности применения курсов ПФ при длительной функции трансплантата с целью предотвращения гуморальных кризов отторжения. Значительная роль гуморального компонента в этиопатогенезе болезни сосудов трансплантата позволяет применять данный метод с целью профилактики развития БКА.

ВЫВОДЫ

Применение плазмаферезов в комплексном лечении хронического отторжения можно рассматривать как эффективный метод воздействия на факторы поражения коронарных артерий в трансплантированном сердце, направленный на увеличение сроков его функциональной состоятельности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Шумаков В.И., Остроумов Е.Н., Сонин С.А. и др.* Радионуклидная вентрикулография в оценке функции миокарда левого и правого желудочков пересаженного сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2002. № 32. С. 3–8.
2. *Шумаков В.И., Хубутия А.Ш., Белецкая Л.В.* Отторжение гуморального типа при аллотрансплантации сердца. М., 2003. С. 108–128.
3. *Найдич А.М.* Механическая активность миокарда трансплантированного сердца в зависимости от течения болезни коронарных артерий: Автореферат дисс. ... к. м. н. М., 2001.
4. *Сонин С.А.* Радионуклидная вентрикулография в оценке функции миокарда левого и правого желудочков пересаженного сердца: Автореферат дисс. ... к. м. н. М., 2001.
5. *Болезнь коронарных артерий пересаженного сердца /* Под ред. В.И. Шумакова. М., 2008. С. 145–153.
6. *Ventura H.O., Mehra M.R., Smart F.W., Stapleton D.D.* Cardiac allograft vasculopathy: current concepts // *Am Heart J.* 1995. V. 129. P. 791–798.
7. *Wellnhofer E., Bocksch W., Hiemann N. et al.* Remodeling: Study of Cardiac Allograft Coronary Artery Disease as a Model of Diffuse Atherosclerosis // *J Heart Lung Transplant.* 2002. V. 21. P. 405–416.
8. *Crespo-Leiro M.G., Veiga-Barreiro A., Domenech N. et al.* Humoral Heart Rejection (Severe Allograft Dysfunction with no Signs of Cellular Rejection or Ischemia): Incidence, Management, and the Value of C4d for Diagnosis // *Am J of Transplantation.* 2005. V. 5. P. 2560–2564.
9. *Grauhan O., Knosalla C., Ewert R. et al.* Plasmapheresis and cyclophosphamide in the treatment of humoral rejection after heart transplantation // *J Heart Lung Transplant.* 2001. V. 20. P. 316–321.
10. *Ratkovec R., Hammond E., O'Connell J. et al.* Outcome of cardiac transplant recipients with a positive donor-specific crossmatch-preliminary results with plasmapheresis // *Transplantation.* 1992. V. 54. P. 651–655.
11. *Schroeder J.S., Hunt S.A., Stinson E.B. et al.* Accelerated graft coronary artery disease: diagnosis and prevention // *J heart and Lung Transplant.* 1992. V. 11. P. 258–266.
12. *Gao Sh. Z., Alderman E.L., Schroeder J.S. et al.* Accelerated coronar vascular disease in the heart transplant patient: coronary arteriographic findings // *J Am Coll. Cardiol.* 1998. V. 12. P. 334–340.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ОСТРОГО ОТТОРЖЕНИЯ ПОЧЕЧНОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА

Траилин А.В.², Никоненко Т.Н.², Остапенко Т.И.¹, Поляков Н.Н.^{1,2}, Никоненко А.С.^{1,2}

¹Запорожский межрегиональный центр трансплантации, Украина

²Запорожская медицинская академия последипломного образования, Украина

Целью исследования была морфологическая характеристика острого отторжения (ОРО) почечных аллотрансплантатов: Т-клеточно- (ОТОО) и антитело-опосредованного (ОАОО). Гистологические срезы биоптатов исследовались после их окрашивания рутинными методами, а также антителами к С4d-компоненту комплемента, CD45R0-антигену Т-лимфоцитов и CD68-антигену макрофагов. Показано, что для ОТОО характерно усиление Т-лимфоцитарной инфильтрации интерстиция по сравнению с дотрансплантационным этапом при сохранении степени макрофагальной инфильтрации, минимальный мононуклеарный гломерулит и капиллярит; тубулит. Морфологическими признаками ОАОО являются: нейтрофильный и Т-лимфоцитарный гломерулит, диффузный капиллярит с дилатацией ПТК, маргинацией моноцитов с примесью нейтрофилов, усиление по сравнению с дотрансплантационным этапом макрофагальной инфильтрации интерстиция при полуколичественной оценке; более высокая по сравнению с ОТОО степень Т-лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации интерстиция с преобладанием лимфоцитов при количественной оценке.

Ключевые слова: трансплантация почки, острое отторжение, С4d-компонент комплемента

MORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL MANIFESTATIONS OF DIFFERENT VARIANTS OF ACUTE KIDNEY ALLOGRAFT REJECTION

Trailin A.V.², Nikonenko T.N.², Ostapenko T.I.¹, Polyakov N.N.^{1,2}, Nikonenko A.S.^{1,2}

¹Zaporozhsky interregional transplant center, Ukraine

²Zaporozhskaya medical academy of postgraduate education, Ukraine

The aim of this study was morphological characteristics of peculiar properties of acute T-cells- (ATMR) and antibody-mediated kidney allograft rejection (AAMR). Histological slices of kidney allograft biopsies were examined after coloration by routine methods and immunohistochemical proceeding for C4d, CD45R0 T-lymphocytes antigen and CD68 macrophages antigen. We've determined that the key features of ATMR are: increasing of T-lymphocytes interstitial infiltration with the same level of macrophages infiltration comparing with implantation biopsies, mild mononuclear glomerulitis and capillaritis; tubulitis. Morphological traits of AAMR are neutrophilic and T-lymphocytes glomerulitis, diffuse capillaritis, capillaries dilatation and margination of mononuclear cells with admixture of neutrophils, macrophagal interstitial infiltration under semiquantitative evaluation, as well as, more pronounced, than in ATMR, T-lymphocytes and macrophages interstitial infiltration under quantitative evaluation.

Key words: kidney transplantation, acute rejection, C4d

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация почки является эффективным методом лечения пациентов в терминальной стадии хронической почечной недостаточности. Одним из

серьезных осложнений у реципиентов являются острые реакции отторжения (ОРО) почечного аллотрансплантата (ПАТ), которые достоверно снижают продолжительность его функционирования [7].

Статья поступила в редакцию 26.02.09 г.

Контакты: Траилин Андрей Вячеславович, доцент, к. м. н. Запорожская медицинская академия последипломного образования, Украина. Тел. +380-612-79-17-19, e-mail: andrei_traitlin@ukr.net

Патогенетической основой отторжения является повреждение ПАТ, обусловленное клеточным и/или гуморальным аллоиммунным механизмами [3]. Среди вариантов ОРО различают пограничные изменения, острое Т-клеточно-опосредованное отторжение (ОТОО), острое антитело-опосредованное отторжение (ОАОО); возможно сочетание ОТОО и ОАОО [15]. Считается, что по сравнению с ОТОО ОАОО имеет худший прогноз, поскольку с большей вероятностью ведет к развитию хронического отторжения и прекращению функционирования ПАТ [2, 3, 7, 8, 10]. Золотым стандартом в диагностике ОРО является гистологическое исследование биоптатов в соответствии с рекомендациями Banff-классификации [13–15], однако во многих случаях этого недостаточно для определения варианта отторжения. Диагностика ОАОО значительно облегчилась с момента внедрения в практику иммуногистохимического окрашивания биоптатов антителами к С4d-компоненту комплемента [5]. При ОРО ПАТ инфильтрируется Т-лимфоцитами и макрофагами, и выявление этих клеток также может повысить качество диагностики, однако степень их участия в патогенезе разных типов ОРО окончательно не установлена [4, 6, 8, 19, 20].

Целью настоящего исследования было изучение морфологических проявлений различных гистологических вариантов ОРО и их иммуногистохимическая характеристика с использованием антител к антигенам Т-лимфоцитов и моноцитов/макрофагов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили истории болезни, пункционные биопсии (11) и фрагменты удаленных трансплантатов (9) из архивного материала, полученные от 20 пациентов с дисфункцией ПАТ вследствие отторжения. Средняя длительность функционирования ПАТ до выполнения биопсии или трансплантэктомии (ТЭ) составила 172 дня (10–1058). Для контроля использовали биоптаты из донорских почек, полученные на дооперационном этапе.

Из клинических данных учитывали уровень креатинина и мочевины крови, протеинурии на момент биопсии или ТЭ, потребность в проведении плазмафереза, применении антилимфоцитарных антител, наличие спонтанного разрыва ПАТ, уровень креатинина при выписке.

Материал фиксировали в 10% забуференном формалине (рН 7,2–7,4), заливали в парафин и срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, ШИК, трихромом по Массону. Изучали морфологические изменения, характерные для ОАОО и ОТОО [2, 3, 10, 13, 14]. Оценивали наличие или отсутствие (1/0) инфаркта, фибриноидного некроза артерий, тромботической микроангиопатии (ТМА).

Определяли степень острого канальцевого некроза (ОКН): 0–5% паренхимы – отсутствие поражения (0), 6–25% – 1-я степень, 25–50% – 2-я степень, >50% – 3-я степень. Подсчитывали процент клубочков, в капиллярах которых находились: 1) лимфоциты; 2) моноциты; 3) нейтрофилы.

Кроме того, для диагностики ОАОО срезы окрашивали антителами к С4d-компоненту комплемента (первичные кроличьи поликлональные антитела к С4d (Biomedica, Австрия); конъюгированные с пероксидазой вторичные антитела к иммуноглобулинам кролика, диаминобензидин (DakoCytomation, Дания). Определяли процент ткани с линейным окрашиванием вдоль контура перитубулярных капилляров (ПТК) как минимум в 5 полях зрения коркового либо мозгового вещества без рубцов и инфарктов (рис. 1, д, е). Негативным считалось окрашивание 0–10% ткани, позитивным – >10%, сильнопозитивным – >50% [2]. Тяжесть морфологических изменений при ОТОО выражали в баллах от 1 – пограничные изменения – до 5 – ОРО Пб-типа. Наличие ОАОО оценивали в 2 балла.

Для идентификации в срезах Т-лимфоцитов и макрофагов использовались первичные мышинные моноклональные антитела к 1) CD45R0 (маркер активированных после стимуляции антигеном Т-лимфоцитов) и 2) CD68 (маркер моноцитов/макрофагов) человека; конъюгированные с пероксидазой вторичные антитела к иммуноглобулинам мыши, диаминобензидин (DakoCytomation, Дания). Срезы докрашивались гематоксилином и заключались в бальзам. С целью негативного контроля вместо первичных антител использовался буферный раствор.

При полуколичественной оценке окрашивания с антителами к CD45R0 и CD68 подсчитывалось максимальное количество CD45R0+ и CD68+ клеток в ПТК, клубочках, в стенке артерий и канальцев, определяли степень клеточной инфильтрации интерстиция в баллах (0–3).

Для количественной оценки Т-клеточной и макрофагальной инфильтрации интерстиция исследовался 1 срез на биоптат; в корковом веществе почек методом систематического случайного отбора выбиралось 10 полей интерстициальной ткани для фотографирования. Изображение, получаемое на микроскопе Axiostar-plus (Zeiss, Germany), оцифровывалось и захватывалось с помощью цифровой фотокамеры (Canon PowerShot A620) при увеличении $\times 400$, затем вводилось в компьютер для последующей обработки. Изображение анализировалось с помощью программ Adobe Photoshop 8.0 (Adobe Systems Inc.) и ImageJ 1.34s (Nat. Inst. of Health, USA). Для оценки степени инфильтрации ПАТ CD45R0+ лимфоцитами и CD68+ моноцитами/макрофагами подсчитывалось их среднее количество в поле зрения.

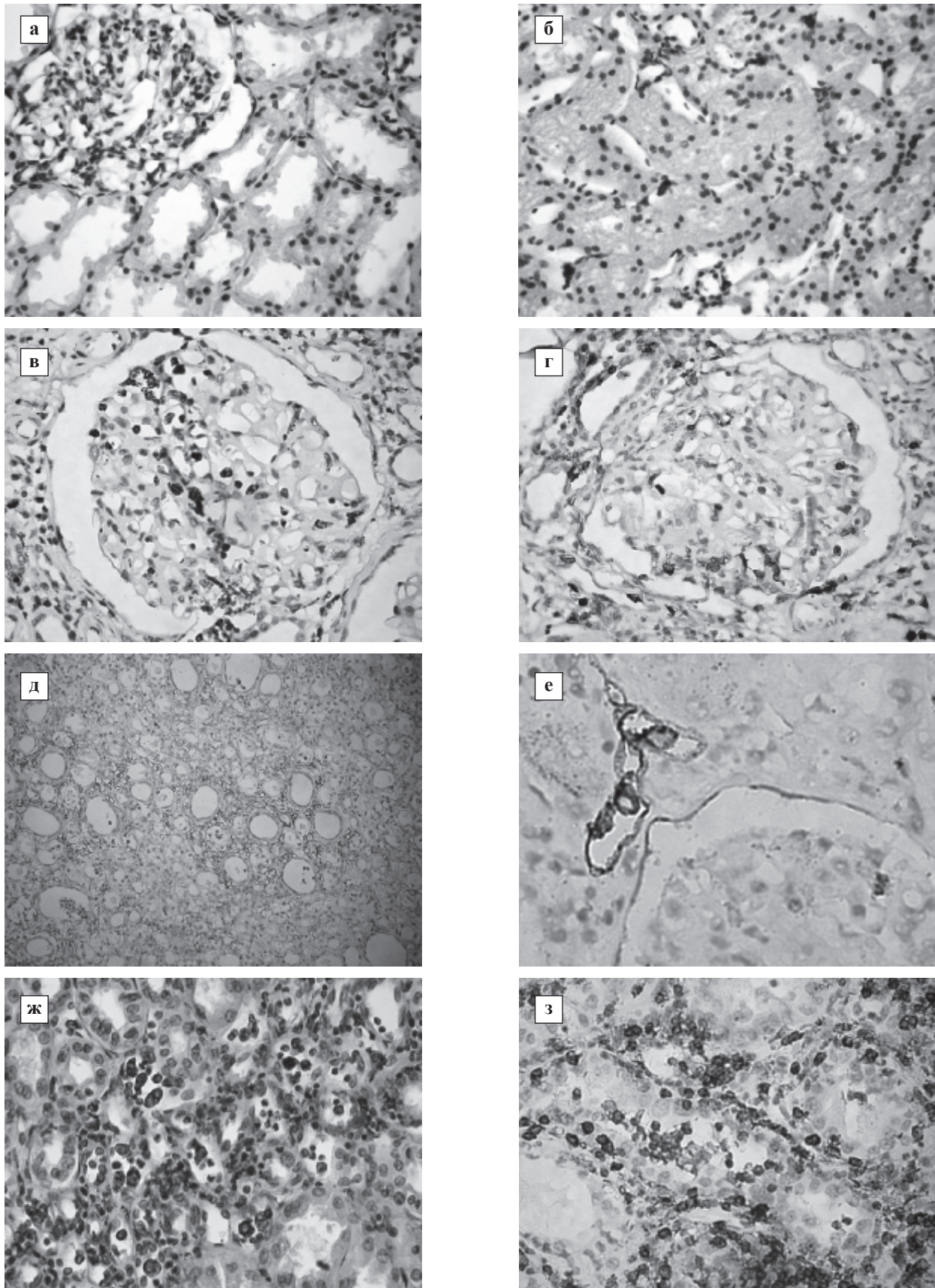


Рис. 1. Морфологические находки в биоптатах ПАТ: а – CD45R0+ лимфоциты в имплантационных биопсиях, $\times 450$; б – CD68+ моноциты в имплантационных биопсиях, $\times 450$; в – CD68+ моноциты в клубочке при OAOO, $\times 800$; г – CD45R0+ лимфоциты в клубочке при OAOO, $\times 800$; д – депозиты C4d-компонента комплемента в перитубулярных капиллярах при OAOO, $\times 200$; е – то же, $\times 1000$; ж – нейтрофилы и CD68+ моноциты в перитубулярных капиллярах при OAOO, $\times 800$; з – CD45R0+ лимфоциты в интерстиции и канальцах при OTOO, $\times 800$. Иммунопероксидазный метод с антителами к C4d, CD45R0, CD68 с докраской гематоксилином

Для описания дискретных, а также непрерывных данных с распределением, отличающимся от нормального, использовали медиану, нижний и верхний квартили; достоверность отличий сначала оценивалась с помощью анализа Краскелла–Уоллиса, а для попарного сравнения групп использовался U-тест Манна–Уитни. Для описания частотных данных использовали проценты, а отличия между группами оценивались с помощью χ^2 -теста. Непрерывные нормально распределенные данные выражали средним значением и стандартным отклонением; для сравнения результатов между двумя группами использовали T-тест. Наличие связи между параметрами оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (R). Все виды анализа выполнялись с использованием программы Статистика 7,0 (StatSoft Inc., USA). Отличия между группами и предсказательная ценность критерия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам окрашивания с антителами к C4d биопсии были классифицированы на C4d+ (n = 16) и C4d- (n = 4). C4d+ биопсии могут быть разделены на подгруппы: изолированное ОАОО (n = 3); пограничные изменения, свидетельствующие о возможном наличии ОТОО (n = 5); ОАОО в сочетании с ОТОО (n = 8). Анализ не выявил достоверных отличий ни по одному из параметров между ОАОО с достоверными признаками ОТОО и без таковых (данные не показаны).

Клинико-лабораторные показатели достоверно не отличались у пациентов с C4d+ и C4d- ОРО (табл. 1), что подтверждает мнение о невозможности отдифференцировать ОТОО и ОАОО без выполнения биопсийного исследования [3].

Уровень мочевины крови на момент биопсии коррелировал со степенью интерстициального воспаления (R = 0,62, p = 0,008), наличием фибриноидного некроза артерий (R = 0,53, p = 0,029) и тяжестью гистологических изменений (R = 0,52, p = 0,033).

Протеинурия коррелировала со степенью гломерулита (R = 0,50, p = 0,050), а разрыв ПАТ – с тяжестью гистологических изменений (R = 0,52, p = 0,037). Наличие артериита (R = 0,57, p = 0,014) и интерстициальных кровоизлияний (R = 0,52, p = 0,026) коррелировало с необходимостью выполнения ТЭ. Креатинин крови при выписке достоверно коррелировал с наличием в биоптатах интерстициальных кровоизлияний (R = 0,63, p = 0,006) и тяжестью гистологических изменений (R = 0,47, p = 0,06).

Корреляционный анализ выявил морфологические изменения, которые были достоверно ассоциированы с C4d-позитивностью: степень гломерулита, присутствие моноцитов и нейтрофилов в клубочках, степень капиллярита, диффузный капиллярит (табл. 2). При сравнении гистологических признаков C4d-негативной и C4d-позитивной ОРО по ряду из них были выявлены достоверные отличия (табл. 2).

Степень гломерулита была достоверно выше при C4d+ ОРО. Более чем в половине случаев у пациентов с ОАОО в клубочках присутствовали нейтрофилы, которые отсутствовали у пациентов без ОАОО (табл. 2). Степень гломерулита коррелировала с количеством CD45R0+ (R = 0,79, p = 0,0007) и CD68+ мононуклеаров (R = 0,52, p = 0,054) в клубочках (рис. 1, в, г), частота выявления которых не зависела от гистологического типа ОРО (табл. 2). Это свидетельствует об одновременном участии Т-клеточных и гуморальных механизмов в повреждении клубочков. И действительно, эндотелий может служить мишенью как для клеточного, так и для гуморального иммунного ответа [18]. Поэтому гломерулит является признаком острого активного отторжения: как ОТОО [3, 12], так и ОАОО [3, 10, 12, 17], однако встречается достоверно чаще при ОАОО [2, 3, 10, 12, 17]. Для дифференциальной диагностики этих двух типов ОРО имеет значение состав инфильтрата: для ОАОО характерно присутствие в клубочках нейтрофилов и моноцитов [3, 10, 17], а для ОТОО характерно преобладание Т-лимфоцитов [17].

Сравнение иммуногистохимической картины Т-лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации клубочков позволило установить, что количество активированных Т-лимфоцитов и моноцитов в клубочках пациентов с C4d+ ОРО превышало эти показатели в C4d-негативной группе; при этом достоверно отличалось только количество Т-лимфоцитов (табл. 3). Преобладание лимфоцитов в клу-

Таблица 1

Клинические данные пациентов с C4d+ и C4d- ОРО

	C4d+ (16)	C4d- (4)	p
Креатинин крови на момент биопсии (мкмоль/л)	340 (205–520)	211 (116–427)	0,19
Мочевина крови на момент биопсии (ммоль/л)	24,3 (13–27,2)	14,9 (7,6–22,1)	0,13
Протеинурия на момент биопсии (г/л)	0,33 (0,12–0,71)	0,1 (0,05–0,17)	0,10
Применение плазмафереза	25%	0	0,29
Применение антилимфоцитарных антител	23%	0	0,29
Разрыв/некроз ПАТ	42%	0	0,12
Трансплантэктомия	43%	25%	0,52
Креатинин на момент выписки (мкмоль/л)	226 (170–300)	207 (107–427)	0,48

Таблица 2

Корреляция морфологических проявлений ОРО с С4d (R); их частота и степень выраженности в биоптатах С4d+ и С4d-

	R	p	С4d+ (16)	С4d- (4)	p
Гломерулит	0,71	0,001	2 (2,0–2,5)	0,75 (0,25–1,5)	0,039
Лимфоциты	0,33	0,149	94%	75%	0,264
Моноциты	0,46	0,039	75%	50%	0,329
Нейтрофилы	0,51	0,022	56%	0%	0,043
ОКН	0,07	0,765	2 (1–3)	1,5 (1–2)	0,437
Кровоизлияния	0,17	0,443	31%	25%	0,807
Инфаркт	0,1	0,674	31%	25%	0,807
Наличие тубулита	-0,24	0,238	75%	100%	0,264
Степень тубулита	-0,37	0,106	1 (0,5–1,5)	2 (1,5–2)	0,122
Интерстициальное воспаление	0,03	0,888	2 (1,3–3)	1 (1–1,5)	0,099
Капиллярит	0,50	0,025	2 (1–3)	0 (0–0,5)	0,002
Только мононуклеары	-0,18	0,446	31%	25%	0,807
<50% нейтрофилов	0,31	0,177	56%	0%	0,043
>50% нейтрофилов	0,4	0,082	13%	0%	0,456
Диффузный капиллярит	0,69	0,001	81%	0%	0,002
Дилатация ПТК	0,40	0,082	13%	0%	0,043
Повреждение эндотелия ПТК	0,32	0,166	19%	0%	0,348
Наличие артериита	0,19	0,415	50%	50%	1,000
Степень артериита	0,04	0,863	0,5 (0–2)	1 (0–2,3)	0,892
Фибриноидный некроз артерий	-0,18	0,452	44%	25%	0,494
ТМА	0,07	0,771	50%	25%	0,369
Тяжесть ОРО	0,48	0,03	3,5 (3,0–6,5)	3,5 (1,5–5,0)	0,291

Таблица 3

Корреляция степени Т-лимфоцитарной (CD45R0) и макрофагальной (CD68) инфильтрации структур ПАТ с С4d (R), и ее особенности в биоптатах С4d- и С4d+

	R	p	С4d+ (16)	С4d- (4)	p
Количество CD45R0+ клеток на клубочек	0,55	0,042	2,4 (0,3–8)	0 (0–0,7)	0,038
Количество CD68+ клеток на клубочек	0,19	0,513	4,4 (0,9–8,1)	1 (0–1,9)	0,225
Количество CD45R0+ клеток на ПТК	0,06	0,829	4,5 (3–9,5)	2 (2–5)	0,233
Количество CD68+ клеток на ПТК	-0,1	0,728	4 (2,5–6)	3 (0–6)	0,633
Количество CD45R0+ клеток на артерию	0,27	0,378	2 (0–20)	0 (0–40)	0,692
Количество CD68+ клеток на артерию	0,45	0,125	2,5 (0–6)	0 (0–20)	0,573
CD45R0+ в интерстиции	0,28	0,314	1,8 (0,8–2,8)	1 (0–1)	0,233
CD68+ в интерстиции	0,34	0,209	1 (1–1,5)	0 (0–0)	0,009
Количество CD45R0+ клеток в поле зрения интерстиция	0,56	0,031	144 ± 94	62 ± 28	0,001
Количество CD68+ клеток в поле зрения интерстиция	0,13	0,634	75 ± 41	25 ± 19	0,003
Количество CD45R0+ клеток на каналец	-0,16	0,577	1,5 (0–3,5)	2 (1–3)	0,734
Количество CD68+ клеток на каналец	0,06	0,843	0,5 (0–1,5)	0 (0–3)	0,840

бочках в С4d+ биопсиях, как мы полагаем, связано с одновременным наличием у половины пациентов ОТОО. Таким образом, полученные нами данные совпадают с сообщениями о том, что для ОАОО характерно присутствие в клубочках нейтрофилов и моноцитов [3, 10, 17], привлекаемых антителами.

Степень капиллярита была достоверно выше в биоптатах пациентов с ОАОО (табл. 2). Для ОАОО была также характерна сочетанная маргинация мононуклеарных лейкоцитов и нейтрофилов в ПТК (рис. 1, ж), тогда как при ОТОО в ПТК идентифицировались только мононуклеары. Количество CD45R0+ и CD68+ мононуклеаров в ПТК досто-

верно не отличалось у пациентов с ОАОО и ОТОО (табл. 3). Тем не менее степень капиллярита достоверно коррелировала с количеством активированных Т-лимфоцитов в ПТК (R = 0,65, p = 0,008), что свидетельствует о значительной роли Т-клеточных механизмов в повреждении ПАТ. В отличие от ОТОО, при ОАОО капиллярит имел диффузный характер (более 50% ПТК) и сопровождался дилатацией ПТК, что находит подтверждение в литературе [2, 10, 12, 13, 15].

При количественной оценке инфильтрации интерстиция было установлено, что если в дотрансплантационных биоптатах количество CD45R0+

Т-лимфоцитов в поле зрения составляло 16 ± 9 , CD68+ макрофагов – 23 ± 11 (рис. 1, а, б), то при ОРО – 136 ± 93 и 65 ± 42 соответственно. Количество Т-лимфоцитов в поле зрения в обеих группах было достоверно большим, чем количество макрофагов ($p = 0,0001$). В интерстиции С4d– биопсий достоверно увеличивалось количество Т-лимфоцитов ($p = 0,0001$), а количество макрофагов не менялось по сравнению с дотрансплантационным этапом (табл. 3). В С4d+ биопсиях достоверно увеличивалось количество как Т-лимфоцитов, так и макрофагов ($p < 0,0001$). По данным ряда авторов, при ОТОО в инфильтратах в основном выявляются активированные CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты [6, 19]. Однако современные данные ставят под сомнение ключевую роль Т-лимфоцитов в ОТОО [3]; имеются указания, что только моноцитарная инфильтрация ассоциируется с повреждением канальцев и с дисфункцией ПАТ при ОРО [4, 20]. Отсутствие усиления макрофагальной инфильтрации интерстиция при ОТОО у наших пациентов может объяснить относительно доброкачественное течение этой формы ОРО. Уровень моноцитарной инфильтрации имеет и прогностическое значение, поскольку эти клетки ответственны за последствия отторжения [8], развитие склероза ПАТ [21] и длительность его жизни [16].

Хотя, по данным рутинного гистологического исследования, степень интерстициального воспаления достоверно не отличалась между двумя группами (табл. 2), иммуногистохимическое окрашивание выявило более высокую степень макрофагальной инфильтрации интерстиция в С4d+ биоптатах (табл. 3), что согласуется с литературными данными [17]. В отличие от метода полуколичественной оценки было показано, что при ОАОО по сравнению с ОТОО достоверно увеличивается присутствие в интерстиции не только макрофагов, но и Т-лимфоцитов. Таким образом, количественный подход к оценке степени инфильтрации является более чувствительным. Литературные данные свидетельствуют, что нарушение функции ПАТ достоверно ассоциируется со степенью инфильтрации [3, 14]. Мы показали, что для С4d+ ОРО (которое имеет более тяжелое течение) характерна более высокая степень инфильтрации интерстиция ПАТ активированными Т-лимфоцитами (рис. 1, з) и макрофагами. Однако, вне зависимости от типа ОРО, в интерстиции Т-лимфоциты достоверно преобладают над макрофагами.

Степень инфильтрации интерстиция активированными Т-лимфоцитами при ее оценке в баллах достоверно коррелировала со степенью интерстициального воспаления ($R = 0,53$, $p = 0,04$). Если же для оценки использовать количественные критерии, то со степенью интерстициального воспа-

ления коррелировало как количество активированных Т-лимфоцитов в поле зрения ($R = 0,56$, $p = 0,03$), так и количество макрофагов в поле зрения ($R = 0,53$, $p = 0,04$).

Степень тубулита и количество иммунопозитивных мононуклеаров в стенке канальцев достоверно не отличались между двумя группами, однако коэффициент корреляции с присутствием Т-лимфоцитов в стенке канальца (рис. 1, з) был достаточно высоким ($R = 0,44$, $p = 0,102$). Отсутствие ожидаемых отличий в степени тубулита было связано с наличием у 13 из 16 пациентов в С4d+ группе ОТОО. Если же отделить пациентов с изолированным ОАОО ($n = 3$), у которых тубулит отсутствовал 0 (0–0), то у 17 пациентов с признаками ОТОО степень тубулита была достоверно ($p = 0,012$) выше – 1 (1–2).

Наличие артериита и его степень, а также количество лейкоцитов в артериальной стенке достоверно не отличались в двух группах. Только количество CD68+ мононуклеаров в артериальной стенке достоверно коррелировало с наличием артериита ($R = 0,58$, $p = 0,04$) и его степенью ($R = 0,61$, $p = 0,028$). Эндартериит характеризуется субэндотелиальной и интимальной инфильтрацией CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитами и CD68+ макрофагами. Артериит выявляется примерно в 25–40% нефробиопсий при ОРО и крайне редко ($<0,5\%$) – в стабильно функционирующих ПАТ [11]. Литературные данные подтверждают наши находки, и свидетельствуют, что в отличие от тубулита при артериите в стенке артерий преобладают макрофаги [9].

Далее мы проанализировали отличия морфологических параметров между С4d– ОРО, фокально С4d+ ОРО и диффузно С4d++ ОРО (табл. 4).

Непараметрический дисперсионный анализ Краскелла–Уоллиса выявил отличия между тремя группами по степени гломерулита ($p = 0,0056$), количеству нейтрофилов в клубочках (0,043), степени капиллярита (0,013), количеству CD45R0+ Т-лимфоцитов на клубочек (0,05), степени инфильтрации интерстиция CD68+ макрофагами (0,023), количеству CD45R0+ Т-лимфоцитов в интерстиции (0,043). Данные, полученные при попарных сравнениях, приведены в табл. 4.

Полученные данные свидетельствуют, что гломерулит является признаком, который наиболее чувствительно реагирует на отложение в капиллярах клубочка С4d, и, по-видимому, на изменение концентрации антител в сыворотке пациента. Привлечение нейтрофилов и Т-лимфоцитов в клубочки, по-видимому, происходит только при достаточно высоком титре антител, поскольку только у пациентов с диффузным окрашиванием степень нейтрофильного гломерулита и присутствие в клубочках CD45R0+ достоверно отличаются от контроля. Капиллярит, макрофагальная и Т-лимфоцитарная

Таблица 4

Морфологические и иммуногистохимические проявления ОРО в биоптатах C4d-, C4d+ и C4d++

	C4d- (4)	C4d+ (9)	C4d++ (7)	p C4d+ против C4d-	p C4d++ про- тив C4d-	p C4d++ про- тив C4d+
Гломерулит	0,75 (0,25–1,5)	2 (1,5–2)	3 (2–3)	1	0,01	0,01
Наличие нейтрофилов в клубочках	0%	44%	71%	0,11	0,02	0,28
Количество нейтрофилов в клубочках	0 (0–0)	0 (0–2)	2 (0–3)	0,26	0,04	0,11
Степень капиллярита	0 (0–0,5)	2 (1–3)	2 (2–3)	0,011	0,01	0,83
Диффузный капиллярит	0%	67%	100%	0,03	0,001	0,09
Количество CD45RO+ на клубочек	0 (0–0,7)	0,73 (0,32–2,4)	3,2 (2,2–8)	0,14	0,05	0,11
CD68+ в интерстиции	0 (0–0)	1 (1–2)	1 (1–1)	0,02	0,05	0,91
Количество CD45RO+ в поле зрения	57 (41–78)	106 (87–115)	165 (131–180)	0,02	0,17	0,24

инфильтрация интерстиция, напротив, отмечаются уже при минимальном депонировании C4d в ПТК.

Нами показано, что у 65% пациентов имеет место сочетание ОАОО и ОТОО: гуморальный ответ против капиллярных антигенов, клеточный ответ против эндотелия артерий (артериит) или канальцев (тубулит). При рутинной световой микроскопии это может быть установлено не всегда, поэтому считаем необходимым рутинное использование окрашивания с антителами к C4d всех биопсийных образцов.

Выявленные различия картины инфильтрации структур ПАТ Т-лимфоцитами и макрофагами при ОАОО и ОТОО могут объяснить более тяжелое клиническое течение ОАОО и худший прогноз [1–3]. Согласно полученным данным, среди морфологических вариантов ОАОО преобладает капиллярный [2, 13]. Другие 2 варианта морфологических проявлений ОАОО – ОКН и артериит – могут иметь место и при ОТОО [2, 13]. Столь высокий процент случаев ОАОО, по-видимому, объясняется более тяжелым его клиническим течением, что являлось основанием для биопсии/трансплантэктомии, в то время как изолированное ОТОО у ряда пациентов могло протекать субклинически. Важность ранней диагностики ОАОО объясняется не только более тяжелым его течением и худшим прогнозом, но и иными подходами к терапии. Таким пациентам показаны плазмаферез, введение иммуноглобулинов, антител к антигенам В-лимфоцитов, спленэктомия; однако наиболее эффективно зарекомендовала себя иммуноадсорбция [1, 2, 10, 12].

ВЫВОДЫ

1. Для ОТОО характерно усиление Т-лимфоцитарной инфильтрации интерстиция по сравнению с

дотрансплантационным этапом при сохранении степени макрофагальной инфильтрации, минимальный мононуклеарный гломерулит и капиллярит; тубулит.

2. Ключевыми морфологическими признаками ОАОО являются: а) нейтрофильный и Т-лимфоцитарный гломерулит; б) диффузный капиллярит ПТК с их дилатацией, маргинацией моноцитов с примесью нейтрофилов; в) усиление по сравнению с дотрансплантационным этапом макрофагальной инфильтрации интерстиция при полуколичественной оценке; г) более высокая по сравнению с ОТОО степень Т-лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации интерстиция с преобладанием лимфоцитов при количественной оценке.
3. Автоматизированный метод более чувствительно выявляет количественные различия в степени инфильтрации интерстиция.
4. У 80% пациентов диагностировано ОАОО, причем у 65% пациентов имеет место сочетание ОАОО и ОТОО.
5. В патогенезе артериита главную роль играют макрофаги.
6. Необходимо рутинное окрашивание с антителами к C4d всех биопсийных образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Böhmig G.A., Wahrmann M., Regele H. et al. Immunoabsorption in severe C4d-positive acute kidney allograft rejection: a randomized controlled trial // Am. J. Transplant. 2007. V. 7. № 1. P. 117–121.
2. Colvin R.B. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis // J. Am. Soc. Nephrol. 2007. V. 18. № 4. P. 1046–1056.
3. Cornell L.D., Smith R.N., Colvin R.B. Kidney Transplantation: Mechanisms of Rejection and Acceptance // Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2008. V. 3. P. 189–220.

4. *Girlanda R., Kleiner D.E., Duan Z. et al.* Monocyte Infiltration and Kidney Allograft Dysfunction During Acute Rejection // *Am. J. Transplant.* 2008. V. 8. P. 600–607.
5. *Feucht H.E., Schneeberger H., Hillebrand G. et al.* Capillary deposition of C4d complement fragment and early renal graft loss // *Kidney Int.* 1993. V. 43. P. 1333–1338.
6. *Hadley G.* Role of integrin CD103 in promoting destruction of renal allografts by CD8 T cells // *Am. J. Transplant.* 2004. V. 4. P. 1026–1032.
7. *Hariharan S., Johnson C.P., Bresnahan B.A. et al.* Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996 // *N. Engl. J. Med.* 2000. V. 342. P. 605–612.
8. *Kirk A.D., Mannon R.B., Kleiner D.E.* Monocytes, not T-cells, primarily determine the functional significance of a rejection // *Abstracts of the World Transplant Congress.* Boston. July 22–27. 2006. P. 409.
9. *Matheson P.J., Dittmer I.D., Beaumont B.W. et al.* The macrophage is the predominant inflammatory cell in renal allograft intimal arteritis // *Transplantat.* 2005. V. 79. P. 1658–1662.
10. *Mauyyedi S., Crespo M., Collins B.A. et al.* Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002. V. 13. P. 779–787.
11. *Mengel M., Chapman J.R., Cosio F.G. et al.* Protocol biopsies in renal transplantation: Insights into patient management and pathogenesis // *Am. J. Transplant.* 2007. V. 7. P. 512–517.
12. *Nickeleit V., Zeiler M., Gudat F. et al.* Detection of the Complement Degradation Product C4d in Renal Allografts: Diagnostic and Therapeutic Implications // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002. V. 13. P. 242–251.
13. *Racusen L.C., Colvin R.B., Solez K. et al.* Antibody-mediated rejection criteria- an addition to the Banff-97 classification of renal allograft rejection // *Am. J. Transplant.* 2003. V. 3. P. 708–714.
14. *Racusen L.C., Solez K., Colvin R.B. et al.* The Banff-97 working classification of renal allograft pathology // *Kidney Int.* 1999. V. 55. № 2. P. 713–723.
15. *Solez K., Colvin R.B., Racusen L. et al.* Banff-05 Meeting Report: Differential Diagnosis of Chronic Allograft Injury and Elimination of Chronic Allograft Nephropathy ('CAN') // *American Journal of Transplantation.* 2007. V. 7. P. 518–526.
16. *Srinivas T.R., Kubilis P.S., Croker B.P.* Macrophage index predicts short-term renal allograft function and graft survival // *Transpl. Int.* 2004. V. 17. P. 195–201.
17. *Tinckam K.J., Djurdjev O., Magil A.B.* Glomerular monocytes predict worse outcomes after acute renal allograft rejection independent of C4d status // *Kidney Int.* 2005. V. 68. P. 1866–1874.
18. *van der Woude F.J., Deckers J.G., Mallat M.J. et al.* Tissue antigens in tubulointerstitial and vascular rejection // *Kidney Int. Suppl.* 1995. V. 52. S11–S13.
19. *Veronese F.V., Noronha I.L., Manfro R.C. et al.* Prevalence and immunohistochemical findings of subclinical kidney allograft rejection and its association with graft outcome. *Clin. Transplant.* 2004. V. 18 (4). P. 357–364.
20. *Wyburn K.R., Jose M.D., Wu H. et al.* The role of macrophages in allograft rejection // *Transplantat.* 2005. V. 80. P. 1641–1647.
21. *Yilmaz S., Gonul I., Sar A. et al.* Does interstitial inflammation have a value in the Banff-97 chronic/sclerosing lesion scoring? In: *Abstracts of the World Transplant Congress.* Boston. July 22–27, 2006. P. 457–458.

СИНХРОНИЗИРОВАННАЯ С ЭКГ ПЕРФУЗИОННАЯ ТОМОСЦИНТИГРАФИЯ В ОЦЕНКЕ ПЕРФУЗИИ, ФУНКЦИИ И АСИНХРОНИИ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ РЕСИНХРОНИЗИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

Остроумов Е.Н.¹, Котина Е.Д.², Слободяник В.В.¹, Шумаков Д.В.¹, Тонкошкурова В.В.¹, Тюняева И.Ю.¹, Честухина О.В.¹, Ермоленко А.Е.¹

¹ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

В исследование включены 15 больных с сердечной недостаточностью и значительной внутрижелудочковой патологической асинхронией ЛЖ. Клинические результаты и показатели синхронизированной с ЭКГ перфузионной томосцинтиграфии оценивали исходно, спустя 2–3 дня и через 3–4 мес. после имплантации устройства. Результаты корреляционного анализа показали высокую обратную связь между объемом и локализацией выявленного исходно нежизнеспособного миокарда и клиническим состоянием пациентов после РТ.

Оценка жизнеспособности миокарда должна стать обязательным условием отбора больных на ресинхронизирующую терапию.

Ключевые слова: ресинхронизирующая терапия, сцинтиграфия, жизнеспособность миокарда

GATED SPECT TO EVALUATE LEFT VENTRICULAR MYOCARDIAL PERFUSION, FUNCTION AND DYSSYNCHRONY FOR RESYNCHRONIZATION THERAPY

Ostroumov E.N.¹, Kotina E.D.², Slobodianik V.V.¹, Shumakov D.V.¹, Tonkoshkurova V.V.¹, Tuniaeva I.Y.¹, Chestukchina O.V.¹, Ermolenko A.E.¹

¹Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

²Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg

The study included 15 consecutive patients with heart failure and substantial LV dyssynchrony undergoing CRT. Clinical and phase analysis of gated myocardial perfusion SPECT assessed at baseline, after 2–3 days and after 3–4 months of CRT. The results demonstrated inversely relationship between the response to CRT and the nonviable myocardium.

Evaluation of myocardial viability is necessary to considered in the selection process for CRT.

Key words: Cardiac resynchronisation therapy, gated myocardial perfusion SPECT, myocardial viability

ВВЕДЕНИЕ

Согласно методическим рекомендациям Европейской ассоциации кардиологов [11], ресинхронизационная терапия (РТ) может быть показана боль-

ным хронической сердечной недостаточностью (ХСН) функциональных классов III–IV по NYHA, при величине ФВ ЛЖ < 35%, ЛЖ КДР (диаметр) > 55 мм и продолжительности комплекса QRS > 120

Статья поступила в редакцию 5.02.09 г.

Контакты: Остроумов Евгений Николаевич, д. м. н., профессор, лаборатория радиоизотопной диагностики ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ. Тел. 8-903-182-62-16, e-mail: oenmagadan@yandex.ru

или 150 мс. Однако в тех же рекомендациях отмечено, что значительная часть больных (примерно 20–30%) клинически не отвечает на РТ с критерием отбора по продолжительности комплекса QRS > 120 или 150 мс [2]. Положительные изменения со стороны основных параметров гемодинамики и ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) не отмечены у 40–50% больных, подвергнутых ресинхронизационной терапии [5]. Многие исследования подтвердили, что именно внутривентрикулярная патологическая асинхрония ЛЖ может быть более точным прогностическим признаком эффективности РТ. Показано, что при подтверждении патологической асинхронии изображения тканевого доплера более вероятен положительный ответ на РТ [4]. Другими методами также оценивали внутривентрикулярную асинхронию. Радионуклидные методы также востребованы в оценке асинхронии миокарда при определении прогноза РТ, например фазовые изображения при радионуклидной вентрикулографии [10]. Важным преимуществом радионуклидных методов является возможность одновременной оценки жизнеспособности миокарда. Поэтому авторы, стремящиеся повысить эффективность такой терапии, определяют дополнительно три условия при принятии решения о ресинхронизации. Первое – наличие патологической внутривентрикулярной асинхронии, второе – наличие жизнеспособного миокарда, особенно в месте расположения электродов, третье – проходимость коронарных вен, в которые помещают электроды. Поскольку радионуклидные методы в оценке жизнеспособного миокарда остаются вне конкуренции, дополнение исследования программами оценки внутривентрикулярной асинхронии удовлетворяет первому и второму условиям одновременно [6]. Именно такому подходу и соответствует предлагаемая работа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

15 больных с недостаточностью кровообращения, функциональный класс NYHA = 3 (3, 4), ФВ ЛЖ = 17% (12, 23), КДО ЛЖ 371 мл (232, 413), КСО 307 мл (173, 362). Исходные результаты шестиминутной пробы – 200 (190, 300) м. 4 женщины, 11 мужчин в возрасте 45 (23–65) лет. Полная блокада левой ножки пучка Гиса на ЭКГ у 14 больных. Все с шириной комплекса QRS на ЭКГ более 120 мс. У 8 больных – ДКМП, у 1 – ГКПП, у 6 – ИБС (из них у одного обширная передняя аневризма ЛЖ). Всем больным предварительно была выполнена коронарография и подтверждено отсутствие гемодинамически значимых стенозов в проксимальном отделе коронарного русла. Согласно методическим рекомендациям Европейской ассоциации кардиологов, всем больным была показана ресинхронизационная терапия.

Учитывая неправильное распределение данных для оценки статистической значимости получаемых результатов, мы использовали непараметрические методы статистики: Манна–Уитни для сравнения двух переменных, Краскелла–Уоллиса и χ^2 для сравнения трех и более независимых переменных, Вилкинсона для определения двух зависимых переменных. Корреляцию оценивали с помощью коэффициента Спирмена. Данные представлены в виде медианы и квартилей.

Для оценки состояния перфузии, функции и асинхронии применили синхронизированную с ЭКГ, перфузионную томосцинтиграфию (g-SPECT) с медицинскими программами обработки с разделением изображения ЛЖ на 17 сегментов и по предполагаемым бассейнам коронарных артерий, одобренными АНА АСС и Европейской ассоциацией кардиологов. Аббревиатура этих программ QGS и 4DM. Данные представлены в виде ступеней (score) и в процентах.

Также была применена оригинальная программа «Карфи», разработанная доцентом Санкт-Петербургского государственного университета Е.Д. Котиной. Внутривентрикулярную асинхронию оценивали параметрами, общепринятыми при фазовом анализе радионуклидных изображений и выраженными в градусах. Это MAT WIAT – параметр, отражающий расчетное время максимального систолического утолщения (аналог конечной систолы), его стандартное отклонение SD, а также BANDWIDT – диапазон асинхронии в пределах сердечного цикла. При этом продолжительность сердечного цикла в каждом случае равняется 360°.

Для оценки межжелудочковой асинхронии дополнительно использовали ультразвуковой метод с расчетом показателей межжелудочковой механической задержки как разницы между аортальным и легочным предсистолическими интервалами. Исследование выполняли на аппарате Vivid 7 «GE» США.

СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение показателей внутривентрикулярной асинхронии левого желудочка у наших больных ХСН проводили с аналогичными показателями контрольной группы, в которую вошли 7 пациентов с наджелудочковыми нарушениями ритма и проводимости в отсутствие какой-либо другой патологии (табл. 1).

Очевидно, показатели внутривентрикулярной асинхронии у наших больных значительно превышали аналогичные величины из группы контроля.

Параллельно оценивали межжелудочковую асинхронию в миллисекундах ультразвуковым методом. Исследования проводили до установки ресинхронизирующего устройства, через 2–3 дня после его

Таблица 1

Сравнение показателей внутрижелудочковой асинхронии основной и контрольной групп

		Медиана (град.)	Нижний квартиль (град.)	Верхний квартиль (град.)	p
MAT WIAT	Норма	133,7	120	148	0,00493
	XCH	176,5	163	193,9	
SD	Норма	9,23	8	18	0,000293
	XCH	65,0	52,6	88,0	
BANDWIDT	Норма	50,0	35	60	0,0000001
	XCH	359,0	353	360	

MAT WIAT – расчетное время максимального систолического утолщения, SD – его стандартное отклонение, BANDWIDT – диапазон асинхронии в пределах сердечного цикла.

установки и повторяли через 3–4 мес. после начала ресинхронизации.

У двух больных сразу после установки ресинхронизирующего устройства было отмечено увеличение жалоб, ухудшение клинического состояния, в связи с чем ресинхронизация была прекращена. Одному больному ИБС понадобилась терапия левосименданом, другой пациентке – специфическая терапия текущего воспалительного процесса в миокарде. Тем не менее эти пациенты не были исключены из исследования. Изменения в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей показателей с $p < 0,05$ и некоторых других показателей сразу после

установки ресинхронизирующего устройства и через 3–4 мес. приведены в табл. 2.

Сразу после установки ресинхронизирующего устройства большинство больных отметили улучшение самочувствия. Однако из всех исследованных показателей в целом по группе значимо изменились лишь результаты 6-минутной пробы.

Через 3–4 мес. результаты 6-минутной пробы уже не выглядели столь значимыми, однако клиническое улучшение позволило отнести больных уже к более легкому функциональному классу по NYHA. Кроме этого, отмечено значимое уменьшение зон региональной гипокинезии (SMS QGS) и

Таблица 2

Изменение клинических и инструментальных показателей после РТ

		Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	p
После установки устройства					
6-мин. проба (м)	до РТ	200	190	300	0,0054
	после РТ	320	300	368	
Класс NYHA	до РТ	3	3	4	0,103
	после РТ	3	2	3	
Eho Asynh (мс)	до РТ	60	30	80	0,081
	после РТ	28	30	40	
MAT WIAT (град.)	до РТ	174,3	163	193,9	0,488
	после РТ	168,6	143,9	195	
SD (град.)	до РТ	65	52,6	88,0	0,637
	после РТ	66	42,7	88,0	
BANDWIDT (град.)	до РТ	359	353	360	0,460
	после РТ	359	352	366	
3–4 мес. спустя после установки устройства					
6-мин. проба (м)	до РТ	200	190	300	0,046
	после РТ	330	321	468	
Класс NYHA	до РТ	3	3	4	0,0004
	после РТ	2	1	2	
Eho Asynh (мс)	до РТ	60	30	80	0,60
	после РТ	30	30	40	
SMS QGS (score)	до РТ	55,5	45	65	0,011
	после РТ	45,12	44,5	47	
MAT WIAT (град.)	до РТ	174,3	163	193,9	0,026
	после РТ	157,8	133	167	

MAT WIAT – расчетное время максимального систолического утолщения миокарда ЛЖ, SD – его стандартное отклонение, BANDWIDT – диапазон асинхронии миокарда ЛЖ в пределах сердечного цикла, Eho Asynh – межжелудочковая асинхрония по ультразвуковому методу, SMS QGS – размеры нарушений движения стенки ЛЖ в score.

параметра асинхронии, отражающего расчетное время наступления конечной систолы (пика фазовой гистограммы). Уменьшение величины этого параметра соответствует относительному уменьшению продолжительности механической систолы и, соответственно, увеличению периода диастолы ЛЖ. Значимых изменений межжелудочковой асинхронии не отмечено, однако отмечено более раннее наступление пика фазовой гистограммы. То есть изменилась только внутрижелудочковая, но не межжелудочковая, механическая асинхрония.

Отсутствие значимых изменений фракции выброса левого желудочка заставило нас провести анализ ее ранговой пошаговой корреляции по Спирмену в сравнении с другими показателями исходно (табл. 3).

Таблица 3

Коэффициент ранговой корреляции по Спирмену до установки ресинхронизирующего устройства

	R	p
STS 4DM & ФВ ЛЖ	-0,656	0,010
SMS 4DM & ФВ ЛЖ	-0,743	0,0023
SMS QGS & ФВ ЛЖ	-0,921	0,000003
STS QGS & ФВ ЛЖ	-0,798	0,00061
BANDWIDT & ФВ ЛЖ	-0,632	0,015
STS 4DM & SD	0,537	0,047
SMS 4DM & BANDWIDT	0,826	0,00027
SMS QGS & BANDWIDT	0,633	0,149
STS QGS & BANDWIDT	0,746	0,0021

SD – стандартное отклонение пика фазовой гистограммы, BANDWIDT – диапазон асинхронии миокарда ЛЖ в пределах сердечного цикла, SMS – размеры нарушений движения стенки ЛЖ в score, STS – размеры нарушений систолического утолщения стенки ЛЖ в score, 4DM и QGS – программы обработки, ФВ ЛЖ – фракция выброса ЛЖ.

До установки ресинхронизирующего устройства обратная корреляция ФВ ЛЖ с размерами нарушений систолического утолщения и подвижности миокарда, как, впрочем, и с диапазоном внутрижелудочковой патологической асинхронии, кажется естественной и, на наш взгляд, не нуждается в дополнительных пояснениях. Прямая корреляция величины нарушений фазовых показателей внутрижелудочковой асинхронии с нарушениями систолического утолщения и подвижности миокарда так же логична, с точки зрения патофизиологии, и лишь подтверждает эффективность используемого программного обеспечения.

Затем мы провели анализ ранговой пошаговой корреляции ФВ ЛЖ, полученной после ресинхронизации, в сравнении с исходными показателями для возможности использования их в прогнозе ФВ ЛЖ, полученной после ресинхронизации (табл. 4).

Таблица 4

Коэффициент ранговой корреляции по Спирмену после установки ресинхронизирующего устройства

	R	p
STS 4DM & ФВ ЛЖ	-0,691	0,006
SMS QGS & ФВ ЛЖ	-0,737	0,0026
STS QGS & ФВ ЛЖ	-0,564	0,035
КДО ЛЖ & ФВ ЛЖ	-0,662	0,0098
КСО ЛЖ & ФВ ЛЖ	-0,719	0,0036
ФВ ЛЖ & ФВ ЛЖ	0,792	0,00071
Mat Wait & ФВ ЛЖ	0,682	0,0071

MAT WIAT – расчетное время максимального систолического утолщения миокарда ЛЖ, SMS – размеры нарушений движения стенки ЛЖ в score, STS – размеры нарушений систолического утолщения стенки ЛЖ в score, 4DM и QGS – программы обработки, КДО, КСО и ФВ ЛЖ – общеизвестные параметры объемов ЛЖ.

Естественно, наиболее высокую корреляцию мы получили между исходной величиной ФВ ЛЖ и ее же величиной после ресинхронизации. Так же ожидается обратная связь между исходными объемами ЛЖ и размерами нарушений подвижности и систолического утолщения миокарда ЛЖ с полученной после ресинхронизации величиной ФВ ЛЖ. Интересной является прямая связь между исходным положением пика фазовой гистограммы до ресинхронизации с ФВ ЛЖ после ресинхронизации.

После этого мы провели анализ корреляции клинических и инструментальных показателей, полученных через 3 мес., в сравнении с исходными показателями до ресинхронизации (табл. 5).

Таблица 5

Коэффициент ранговой корреляции по Спирмену 3 мес. спустя после установки устройства

	R	p
LCX_THIC & 6-минутная проба после	-0,88571	0,018845
TOT_THIC & 6-минутная проба после	-0,88571	0,018845

LCX_THIC – объем нарушений систолического утолщения миокарда в бассейне огибающей ветви левой коронарной артерии (заднебоковая стенка), TOT_THIC – объем нарушений систолического утолщения всего миокарда ЛЖ.

Важно, что клинический показатель 6-минутной пробы, проведенной через 3–4 мес. после установки ресинхронизирующего устройства, обратно коррелировал с исходной величиной региональных нарушений систолического утолщения в области заднебоковой стенки и величиной нарушений систолического утолщения всего левого желудочка до ресинхронизации.

Нам не удалось получить значительной корреляции между размерами нарушений перфузии и клиническими показателями. Вероятно, это связано с превалированием кардиопатий в группе обследованных нами больных. Распределение перфузии у больных кардиопатиями, как правило, более равномерное, чем у больных ИБС, имеющих очаговые изменения, однако региональные нарушения функции миокарда ЛЖ у данных пациентов выражены значительно больше. Размеры нарушений перфузии миокарда левого желудочка в покое в целом по всей группе с обработкой программой 4DM SPECT приведены как в виде score, так и в процентах пораженного миокарда (табл. 6).

Таблица 6

Размеры нарушений перфузии миокарда, оцененные до РТ

	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
SPS 4DM (score)	18	11	36
TOT PERF (%)	56	52	77

SPS 4DM – объем нарушений перфузии миокарда ЛЖ в score, TOT PERF – объем нарушений перфузии миокарда ЛЖ в %.

Видно, что, несмотря на превалирование в нашей группе больных кардиопатиями, размеры нарушений перфузии в целом по группе более чем значительны.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Снижение перфузии на скintiграммах покоя при ангиографически не измененных коронарных артериях прежде всего свидетельствует о наличии нежизнеспособного миокарда. Как мы уже отмечали ранее, у больных ИБС, страдающих сердечной недостаточностью с поражением более 50% миокарда, даже полная реваскуляризация, улучшающая клиническое состояние пациента, не приводит к значимому изменению объемных показателей левого желудочка сердца [1]. Более того, при исследовании эффективности РТ показано, что наиболее «отзывчивыми» на ресинхронизацию являются больные ХСН со стандартным отклонением фазовой гистограммы менее 74° и диапазоном внутривентрикулярной асинхронии менее 244° [7]. То есть, с одной стороны, у наших больных объем нежизнеспособного миокарда не позволял достоверно изменять фракцию выброса ЛЖ и другие общепринятые инструментальные показатели, а с другой – тяжелая степень внутривентрикулярной асинхронии еще раз подчеркивала низкую вероятность улучшения клинического состояния наших пациентов в результате ресинхронизации. Поэто-

му минимальные улучшения в 6-минутной пробе сразу после ресинхронизации и в функциональном классе ХСН по NYHA через 3–4 мес. после продолжения терапии нам, вероятно, нужно воспринимать как своеобразный «подарок» непараметрических методов статистики.

Впрочем, и «подарку» можно найти объяснение. В результате ресинхронизации фазовая гистограмма стала раньше достигать своего пика. Это свидетельствует в пользу относительного укорочения механической систолы и, соответственно, удлинения периода механической диастолы ЛЖ. Увеличение периода диастолы – один из важных механизмов улучшения диастолической функции и нивелирования клинических проявлений сердечной недостаточности [11]. Кроме того, положение этого пика до ресинхронизации напрямую коррелировало с величиной ФВ левого желудочка после ресинхронизации.

Воспользовавшись этим «подарком», мы с помощью коэффициента ранговой корреляции по Спирмену попытались выяснить связь конечных (после ресинхронизации и через 3–4 мес.) величин 6-минутной пробы и функционального класса ХСН по NYHA с исходными (до ресинхронизации) инструментальными показателями. Оказалось, что оба этих клинических показателя наиболее «плотно» были связаны обратной связью с исходной величиной региональных нарушений систолического утолщения в области заднебоковой стенки и величиной нарушений систолического утолщения всего левого желудочка до ресинхронизации. Здесь необходимо отметить, что систолическое утолщение уже давно известно как один из наиболее чувствительных показателей жизнеспособности миокарда [8, 9]. Этот факт еще раз подтверждает определяющую роль жизнеспособности миокарда в эффективности ресинхронизационной терапии у наших больных. Соответственно полученным результатам, мы просто обязаны согласиться с другими авторами [3, 12, 13] в том, что эффективность ресинхронизирующей терапии напрямую связана с размером жизнеспособного миокарда. Более того, расположение электродов в зоне нежизнеспособного миокарда исключает эффективность такого лечения.

ВЫВОД

Оценка жизнеспособности миокарда должна стать обязательным условием отбора больных на ресинхронизационную терапию.

Оценивая недостатки нашей работы, в первую очередь необходимо отметить малое число больных в нашем исследовании. При накоплении материала надеемся изучить рассматриваемую проблему более детально.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Остроумов Е.Н., Честухин В.В., Миронков Б.Л., Покатилов А.А., Миронков А.Б.* Возможность улучшения клинического состояния у больных ишемической кардиомиопатией после реваскуляризации // Российский кардиологический журнал. 2006. Внеочередной выпуск. С. 78–82.
2. *Abraham W.T., Fisher W.G., Smith A.L. et al.* Cardiac resynchronization in chronic heart failure // *Engl J Med.* 2002. V. 346. P. 1845–1853.
3. *Adelstein E.C., Saba S.* Scar Burden by Myocardial Perfusion Imaging Predicts Echocardiographic Response to Cardiac Resynchronization Therapy in Ischemic Cardiomyopathy // *Am Heart J.* 2007. V. 153 (1). P. 105–112.
4. *Bax J.J., Bleeker G.B., Marwick T.H. et al.* Left ventricular dyssynchrony predicts response and prognosis after cardiac resynchronization therapy // *J Am Coll Cardiol.* 2004. V. 44. P. 1834–1840.
5. *Birnie D.H., ASL Tang.* The problem of non-response to cardiac resynchronization therapy // *Curr Opin Cardiol.* 2006. V. 21. P. 20–26.
6. *Boogers M.M., Ji Chen and Bax J.J.* Role of nuclear imaging in cardiac resynchronization therapy // *Expert Review of Cardiovascular Therapy* January. 2009. V. 7. (1). P. 65–72.
7. *Brandao S., Ji Chen, Giorgi M.Cl. et al.* Phase analysis of gated myocardial perfusion SPECT: A new method to evaluate left ventricular dyssynchrony // *J Nucl Med.* 2007. V. 48 (Suppl. 2). 234 p.
8. *Maruyama A., Hasegawa S., Paul A.K. et al.* Myocardial viability assessment with gated SPECT Tc-99m tetrofosmin % wall thickening: comparison with F-18 FDG-PET // *Ann Nucl Med.* 2002. V. 16 (1). P. 25–32.
9. *Perrone-Filardi P., Bacharach S.L., Dilsizian V. et al.* Regional left ventricular wall thickening. Relation to regional uptake of 18 fluorodeoxyglucose and 201Tl in patients with chronic coronary artery disease and left ventricular dysfunction // *Circulation.* 1992. V. 86. P. 1125–1137.
10. *Toussaint J.F., Lavergne T., Kerrou K. et al.* Basal asynchrony and resynchronization with biventricular pacing predict long-term improvement of LV function in heart failure patients // *Pacing Clin Electrophysiol.* 2003. V. 26. P. 1815–1823.
11. *Vardas P.E. et al.* Guidelines for cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy // *European Heart J.* 2007. V. 28. P. 2256–2295.
12. *Ypenburg C., Schalij M.J., Bleeker G.B. et al.* Extent of Viability to Predict Response to Cardiac Resynchronization Therapy in Ischemic Heart Failure Patients // *J Nucl Med.* 2006. V. 47. P. 1565–1570.
13. *Ypenburg C., Schalij M.J., Bleeker G.B. et al.* Impact of viability and scar tissue on response to cardiac resynchronization therapy in ischaemic heart failure patients // *European Heart J.* 2007. V. 28. P. 33–41.

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СОЗДАНИЯ И МОДИФИЦИРОВАНИЯ БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ

Василец В.Н.¹, Казбанов И.В.², Недосеев С.Л.³, Нистратов В.М.⁴, Шварцкопф П.В.⁵, Севастьянов В.И.²

¹АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», г. Москва

²ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития, г. Москва

³РНЦ «Курчатовский институт», г. Москва

⁴ЗАО «Международный институт прикладной физики и высоких технологий», г. Москва

⁵Московский физико-технический институт (государственный университет), г. Долгопрудный Московской области

В статье анализируются условия, необходимые для успешного функционирования имплантатов на основе полимерных матриц, имеющих структуру хаотической трехмерной сетки. Цели исследования: разработка методик изготовления объемных и двухмерных структурированных матриц из полимерных биосовместимых материалов, разработка методик создания имплантатов из матриц путем электрофизического воздействия на поверхность волокон структурированных матриц с целью управления их биохимической и биологической активностью.

Ключевые слова: пористые полимерные матрицы, плазменная обработка, гель-сублимационный метод

PHYSICAL METHODS OF PRODUCTION AND MODIFICATION OF BIOPOLYMER MATRIXES

Vasilets V.N.¹, Kazbanov I.V.², Nedoseev S.L.³, Nistratov V.M.⁴, Schwartskopf P.V.⁵, Sevastianov V.I.²

¹Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow

²Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

³Russian Research Center «Kurchatov Institute», Moscow

⁴International Institute of Applied Physics and High Technologies, Moscow

⁵Moscow Physicotechnical Institute (State University), Dolgoprudny, Moscow region

The conditions which are necessary for successful functioning of implants based on polymer matrix having the structure of a chaotic three-dimensional grid are analyzed. The investigation is aimed on the development of techniques for manufacturing the volumetric structured matrixes from polymer biocompatible materials and techniques of implant creation by electro-physical surface treatment of the matrix structure with the purpose of management of their biochemical and biological activity. Morphological characteristics of the matrixes, produced by the method of freeze-drying of the polymeric gel are reported. The complex energy system created for volumetric discharges generation in the structured heterogeneous substances is described.

Key words: scaffolds, plasma treatment, gel sublimation method

Конструирование и создание имплантатов на основе объемных пористых матриц из биodeградируемых полимеров, которые характеризуются высокой

биологической безопасностью, а также возможностью контролировать режим их биорезорбции, является одним из важных направлений в биотехнологии [1].

Статья поступила в редакцию 2.03.09 г.

Контакты: Василец Виктор Николаевич, в. н. с. Института медико-биологических исследований и технологий, г. Москва. Тел. (495) 510-49-30, e-mail: vnvasilets@yandex.ru

Для успешного функционирования полимерный матрикс, имеющий структуру хаотической трехмерной сетки, должен состоять из системы взаимосвязанных ячеек разного размера. Ячейки с размером в десятки и сотни микрон, многократно превышающим размеры имплантируемых клеток, необходимы для их инфильтрации в объем матрикса. Наличие системы ячеек меньшего, микронного и субмикронного, размера необходимо для осуществления диффузии питательных веществ и выведения продуктов жизнедеятельности клеток. Важно, чтобы при этом пространство матрикса, занимаемое твердой фазой, и пустое пространство внутри матрикса были бы односвязными. Это означает, что в объеме матрикса не должно быть замкнутых пустот. Наконец, механические характеристики матрикса должны соответствовать условиям функционирования трансплантированных клеток в живом организме.

Первое представление о сложности физико-химических процессов в имплантате может дать модельная схема создания имплантата из пористого матрикса и его взаимодействия с живой средой (рис. 1).



Рис. 1. Модельная схема создания имплантата из пористого матрикса и его взаимодействия с живой средой

В настоящее время количественные данные о физико-химических процессах, происходящих в имплантате на стадии его биорезорбции в живом органе, практически отсутствуют. Не известно, в какой степени в ходе биорезорбции сбалансированы массо- и газообмен в системе «имплантат – живой организм», как изменяется структура трехмерной сетки матрикса, как изменяется состав жидких и газообразных сред, заполняющих матрикс, как изменяется взаимодействие с твердой фазой имплантата, постепенно заменяемой клеточной культурой и продуктами ее жизнедеятельности в ходе биорезорбции.

На стадии создания матрикса имеется возможность контролировать следующие его характеристики:

- химический состав;
- характерные размеры волокон и пустот, образующих трехмерную сетку матрикса, спектр этих размеров;
- прочность волокон, жесткость структуры сетки;
- физико-химические характеристики поверхности волокон, прежде всего смачиваемость поверхности.

Понятно, что эти характеристики взаимосвязаны, а диапазон возможностей ограничен существующими материалами и технологиями их обработки.

Цель данной работы:

- разработка методик изготовления объемных и двухмерных структурированных матриксов из полимерных биосовместимых материалов;
- разработка методик создания имплантатов из матриксов путем электрофизического воздействия на поверхность волокон структурированных матриксов для управления их биохимической и биологической активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе исследований предложена методика приготовления биомедицинских матриксов, основанная, в частности, на разработках способов приготовления малоплотных наноструктурных сред и изделий из них, применяемых в исследованиях по управляемому импульсному термоядерному синтезу [3]. Предложенная методика включает в себя приготовление геля из биополимера, введение кондиционирующих добавок, управление газосодержанием геля, отверждение геля, сублимационную сушку заготовки. Микроструктура полученных матриксов показана на рис. 2. Разработаны и используются компьютерные программы для оперативного количественного анализа морфологии матриксов по микрофотографиям их структуры.

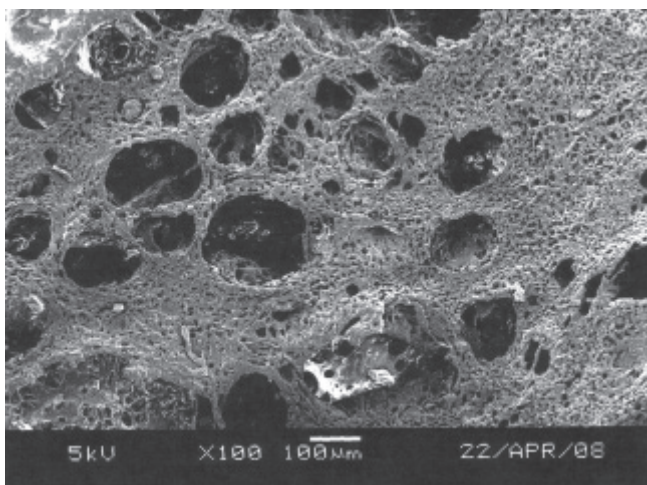


Рис. 2. Микроструктура полимерного матрикса

На основе экспериментальной установки «ЭХО» (рис. 3) создана комплексная энергетическая система для возбуждения объемных разрядов в структурированной гетерогенной среде [2]. К работе с объемными пористыми биомедицинскими матриксами в составе системы адаптированы генератор импульсных электронных пучков (энергия электронов до 4 МэВ, длительность импульса 3–5 мкс, частота повторения импульсов до 300 Гц, средний ток пучка до 0,25 мА) и генератор импульсов электрического разряда (амплитуда импульса напряжения 20 кВ, импеданс согласованной нагрузки 37 Ом,

длительность импульса ~150 нс, частота повторения импульсов до 300 Гц).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Трудность перевода объемного, трехмерного матрикса в биоимплантат состоит в том, что большинство полимеров, применяемых для изготовления пористых трехмерных матриксов, гидрофобны. Это нежелательный фактор, снижающий жизнеспособность клеток. Для нанесения гидрофильных покрытий на поверхность полимерных пленок обычно используют газоразрядную плазму. Однако плазменное нанесение гидрофильных покрытий на поверхность волокон, образующих внутреннюю микроструктуру объемного матрикса, затруднено. Действительно, длина каналов в матриксе составляет миллиметры при микронных диаметрах канала. Газоразрядная плазма, применяемая для обработки открытых поверхностей полимеров, не проникает в такие каналы. Поэтому для проведения направленных плазмохимических процессов в трехмерной гетерогенной среде внутри матрикса, содержащего газовую и твердую фазы, необходимо использовать комплексные электрофизические воздействия.

В нашем исследовании основным действующим фактором является пучок электронов высокой энергии (до 4 МэВ). Энергичные электроны, падающие на поверхность матрикса, легко проникают внутрь его пористой среды, производя первичную иониза-

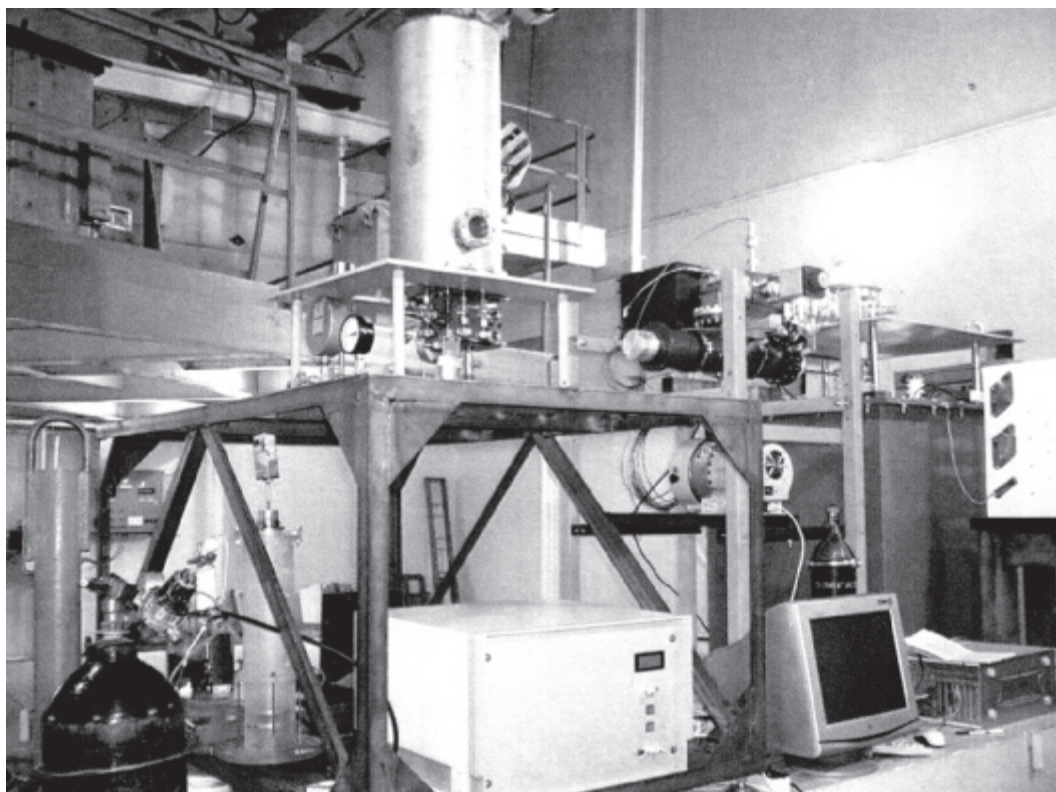


Рис. 3. Общий вид установки «ЭХО»

цию газа, заполняющего ячейки. При одновременном с электронным пучком наложении на матрикс электрического поля внутри матрикса возникает объемный электрический разряд. Газоразрядная плазма действует на поверхность твердотельной сетки внутри матрикса, осуществляя ее модификацию в заданном направлении, например, увеличивая гидрофильность или повышая биосовместимость матрикса с соответствующими биологическими объектами.

Отметим дополнительные факторы и возможность действия пучка энергичных электронов установки «ЭХО».

Объемная стерилизация. Действие пучка электронов высокой энергии установки «ЭХО» позволяет также осуществлять объемную стерилизацию получаемых материалов и препаратов, в том числе полностью упакованных.

Радиационная сшивка полимерных молекул. При лечении гнойно-некротических процессов эффективно сочетание антибактериальной терапии с ферментами, которые осуществляют деградацию белков отмирающих тканей, являющихся питательной средой для развития патогенных микроорганизмов. Для создания наполнителей покровных хирургических материалов, содержащих в своем составе ферменты, наиболее приемлемой композиционной основой являются гидрофильные гели на основе синтетических полимеров с иммобилизованными в геле наночастицами и молекулярными комплексами. При получении гелей из водных растворов синтетических полимеров можно использовать технологию радиационной «сшивки». Эта технология позволяет получать полимерные гидрогели, содержащие лекарственные препараты или биологически активные вещества, которые иммобилизуются в наноразмерной полимерной матрице сетчатой структуры с требуемой плотностью и морфологией, образуемой в результате радиационной «сшивки». Наиболее эффективным средством радиационной сшивки по-

лимеров является их обработка пучком электронов, имеющих энергию в несколько МэВ. Такие электроны проникают в жидкие органические среды на глубину в 1–3 см. Интенсивность электронных пучков, генерируемых ускорителем установки «ЭХО», достаточна для получения необходимых доз облучения за короткое время. В указанном диапазоне энергии электронов пучка в обрабатываемых средах возникает наведенной радиоактивности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение отметим, что экспериментальная установка «ЭХО», адаптированная к работе с твердотельными имплантатами, способна не только обрабатывать лабораторные образцы, но и обеспечивать электронно-пучковую (радиационную) модификацию опытных партий имплантатов и других биомедицинских препаратов, то есть выполнять технологические задачи.

Работа выполнена при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям, госконтракт 02.512.11.2236, и Российского фонда фундаментальных исследований, грант 07-02-12046.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. Полиоксиканоаты – биоразрушаемые полимеры для медицины / Под ред. В.И. Шумакова, 2-е изд., дополн. и переработ. Красноярск: Платина, 2006. 288 с.
2. Долгачев Г.И., Масленников Д.Д., Мижирецкий В.И., Недосеев С.Л. Экспериментальная установка «ЭХО» для модифицирования гетерогенных органических сред совместным действием электрического разряда и электронного пучка // Вопросы атомной науки и техники. Сер. «Термоядерный синтез». 2008. Вып. 1. С. 57–68.
3. Медовицков С.Ф., Недосеев С.Л. Способ изготовления лайнера для инерциального термоядерного синтеза. Патент РФ № 2075115 от 10.03.1997.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ ФОРМИРОВАНИЯ ИМПЛАНТАЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИЙ ЭЛЕКТРОСПИННИНГА И БИОПРИНТИРОВАНИЯ

Василец В.Н.¹, Казбанов И.В.¹, Ефимов А.Е.¹, Севастьянов В.И.²

¹ АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», г. Москва

² ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития, г. Москва

Разработаны новые методы получения матриц для восстановительной и заместительной хирургии из биodeградируемых полимеров полиоксibuтирата и коллагена. Для формирования пористых структур с регулируемой морфологией из биodeградируемых полимеров применяли технологии электроspиннинга и биопринтирования. Полученные структуры исследовали методами оптической микроскопии, электронной сканирующей микроскопии и зондовой микроскопии по технологии ИНТЕГРА Томо, позволяющей восстанавливать трехмерное изображение внутренней структуры матрикса.

Ключевые слова: пористые полимерные матрицы, электроspиннинг, биопринтирование, атомно-силовая микроскопия

NEW METHODS FOR IMPLANT MATRIX FORMATION BASED ON ELECTROSPINNING AND BIOPRINTING TECHNOLOGIES

Vasilets V.N.¹, Kazbanov I.V.¹, Efimov A.E.¹, Sevastianov V.I.²

¹Institute of Biomedical Research and Technology, Moscow

²Academician V.I. Schumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

New implant materials for regenerative and replacement surgery based on biodegradable polymers like collagens and polyoxybutirates are developed. Porous structures with controllable morphology were formed from biodegradable polymers using electrospinning and bioprinting technologies. The matrixes were studied by visible and electron scanning microscopy as well as INTEGRA Tomo scanning probe platform making possible the restoration of inner 3D structure of polymer matrix.

Key words: scaffolds, electrospinning, bioprinting, atomic force microscopy

ВВЕДЕНИЕ

Разработка и создание новых имплантационных материалов представляется в настоящее время весьма актуальной задачей для восстановительной и заместительной хирургии. Одна из важнейших составных частей имплантата – полимерная матрица, которая является носителем клеточного материала. Матрица должна обеспечивать хорошую адгезию клеток, их пролиферацию и, в случае стволовых клеток, – дифференциацию их в нужном направлении.

В настоящее время для изготовления полимерных матриц применяются в основном различные химические методики, наиболее популярной из которых является «выщелачивание». В этом методе в полимер вводится определенная соль, которая затем вымывается в соответствующем растворителе, в результате чего получается пористая структура. Такие методы обладают целым рядом недостатков, наиболее существенными из которых являются: – невозможность получения заранее заданной структуры;

Статья поступила в редакцию 9.02.09 г.

Контакты: Севастьянов Виктор Иванович, зав.отделом по исследованию биоматериалов ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития. Тел. (499) 196-88-74, e-mail: viksev@yandex.ru

- ограниченные возможности в регулировании пористости и морфологии матрикса;
- хаотичность и низкая воспроизводимость образующейся пористой структуры.

В связи с этим нами были разработаны новые методы формирования пористых матриксов из полимеров биологического происхождения, основанные на современных физических методах электроспиннинга и биопринтирования. В методе электроспиннинга используется постоянное электрическое поле, в нем образуются полимерные нити, из которых в дальнейшем формируются полимерные пористые структуры [5, 7, 11]. При подаче высокого напряжения на капилляр, из которого вытекает раствор полимера, вследствие электростатического расталкивания происходит расслаивание потока на нити, которые, переплетаясь, формируют пористую структуру на подложке. Посредством изменения таких параметров, как напряженность поля, скорость подачи и концентрация мономера, можно в широких пределах менять размер волокон, размер пор, величину пористости и отношение поверхности к объему [7, 11].

В методе биопринтирования используется технология струйной печати, которая позволяет создавать трехмерные структуры с заранее заданной морфологией [3, 4, 8–10]. В этом методе, как и в обычном струйном принтере, используются «биочернила» – это могут быть белки, полимеры для создания матрикса или живые клетки. В качестве подложки используется «биобумага» – специальная поверхность, которая обеспечивает стабилизацию и существование созданных структур. В случае принтирования белков и клеток это должна быть биосовместимая поверхность. Трехмерные структуры формируются с помощью биопринтера, который использует технологию высокоскоростной струйной печати «биочернил» для формирования заранее запрограммированных конструкций из тех или иных биологических субстанций на «биобумаге». На последней стадии биопринтирования используется инкубатор, в котором при определенных условиях происходит фиксация матрицы или протекают процессы прорастания и пролиферации клеток в случае принтирования клеточных структур.

Широкое применение в восстановительной и заместительной хирургии в последнее время находят такие полимеры, как альгинат, коллаген, желатин, хитозан [2, 5, 7], различные композиции на их основе, а также полиэфиры бактериального происхождения – полиоксибутираты и их сополимеры [1], которые синтезируют прокариотические микроорганизмы в специфических условиях.

Из перечисленных выше биополимеров наиболее распространенным для изготовления матриксов является коллаген, представляющий собой вы-

сокомолекулярный белок соединительной ткани. По массе он составляет 30% от общей массы белков человека. Коллаген придает соединительной ткани механическую прочность и гибкость, участвует в процессах свертывания крови и роста клеток, а также характеризуется низкими антигенными и токсичными свойствами. При введении коллагена в организм он подвергается быстрой резорбции, расщепляется и стимулирует репаративные процессы, в частности образование собственного коллагена организма. В связи с этим коллаген и изделия на основе коллагена широко используются в косметологии и медицине, а коллагеновые губки, гели, пленки и композиты с различными полимерами используют в качестве матриксов для выращивания клеточных культур. Недостатки коллагена связаны с потерей прочности вещества при химической обработке, предшествующей его выделению, а также ограниченным сроком функциональности коллагеновых изделий (порядка одного месяца), что недостаточно для полного восстановления тканей и может приводить к формированию рубцовой ткани.

С конца 80-х годов растет интерес исследователей к полиэфирам бактериологического происхождения: например, полимеру β -оксимасляной кислоты (полиоксибутират, ПОБ), полимеру оксиктановой кислоты и двухкомпонентным сополимерам β -оксибутирата и β -оксивалериата (ПОБ-со-ПОВ) [1]. Эти материалы обладают термопластичностью, оптической активностью, антиоксидантными свойствами, биodeградацией и высокой биосовместимостью. Физико-химические свойства существенно варьируют в зависимости от состава [1]. В настоящее время известно более сотни полиоксиалканоатов. Они накапливаются при определенных условиях в бактериальных клетках в виде гранул, которые хорошо визуализируются при окрашивании. В ряду физико-химических свойств сополимеры ПОБ-со-ПОВ сходны с широко применяемыми и выпускаемыми, не разрушающимися в природной среде синтетическими полимерами, такими как полиэтилен и полипропилен, но недостаточная эластичность и термопластичность гомополимера ПОБ-со-ПОВ существенно ограничивает область его применения [1].

Отдельно следует отметить способность ПОБ-со-ПОВ к биodeградации. В условиях *in vivo* она происходит очень медленно, при постепенном (послойном) выщелачивании материала с поверхности без образования грубых дефектов и потери прочности [1]. Соплимеры ПОБ-со-ПОВ более устойчивы к разрушению в условиях длительной эксплуатации, а их механическая прочность намного превосходит таковую у изделий из гомо- и сополимеров на основе молочной и гликолевой кислот.

К настоящему времени полиоксиалканоаты использовались для изготовления сердечных клапанов и

кровеносных сосудов, костных протезов, нервной ткани, кожных покровов и многих других изделий [1].

Целью данной работы стала разработка новых методов получения биополимерных матриц для восстановительной и заместительной хирургии из биodeградируемых полимеров полиоксибутирата и коллагена с использованием технологий электроспиннинга и биопринтирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ УСТАНОВКИ

А) Установка для электроспиннинга

На рис. 1 представлена установка, созданная для изготовления биополимерных матриц методом электроспиннинга. Экспериментальная установка для электроспиннинга состоит из перфузора (системы подачи полимера) (1), высоковольтного источника питания (2) и неподвижного заземленного коллектора (подложки) (3). Перфузор представляет собой шприц, поршень которого соединен с шаговым двигателем. Скорость движения поршня задавалась в количестве шагов, выполняемых двигателем за секунду.

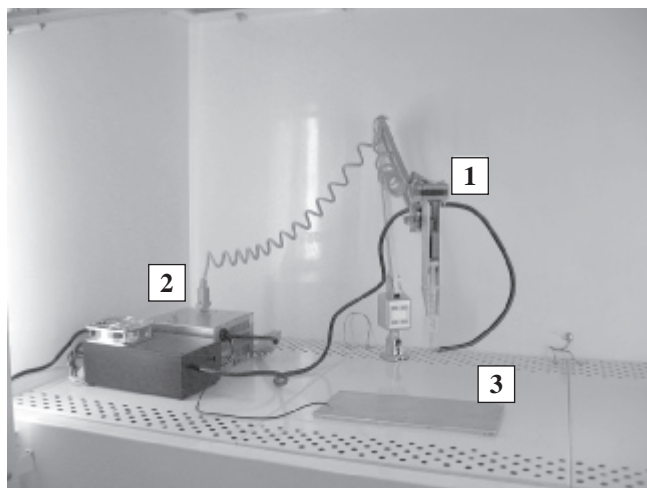


Рис. 1. Установка для электроспиннинга

Предварительные эксперименты показали, что оптимальной является частота вращения шагового двигателя 8–10 Гц, что соответствует скоростям подачи полимера 0,28–0,35 мл/мин. При меньшей скорости полимер застывал на кончике иглы, образуя «пробку», а при большей скорости растворитель не успевал испаряться с поверхности нити при формировании матрицы. Установка для электроспиннинга была помещена в шкаф ламинарного течения, оснащенный вытяжкой и специальным освещением. Все элементы установки для целей электробезопасности были заземлены.

Материалом для формирования матриц служил раствор биологического полимера поли-β-ок-

сибутирата (ПОБ) в метилхлориде. Этот растворитель был выбран вследствие высокой летучести, что приводило к испарению раствора в процессе нанесения волокон на подложку. Перед проведением эксперимента металлическая подложка, на которую наносили образец, тщательно промывалась.

Б) Установка для биопринтирования

Для целей биопечати нами был модернизирован серийный струйный принтер Epson color 200, представленный на рис. 2. На первом этапе модернизировали подающее устройство принтера. Для использования более толстых, чем бумага, и негибких подложек, таких как лабораторное стекло, из принтера удаляли часть верхних прижимных валиков и вырезали окно в задней части принтера. Так как стекло имеет большую по сравнению с бумагой толщину, печатающую головку и узел ее перемещения поднимали на определенную высоту, чтобы обеспечить беспрепятственное движение печатающей головки над подложкой.



Рис. 2. Струйный принтер Epson color 200

Отметим, что в картридже принтера Epson color 200 возможно применение любых чернил. Вставленный картридж замыкает группу контактов, оповещающая принтер о своем присутствии. Модернизация картриджа заключалась в том, что на этих контактах устанавливали переключатель, который замыкал необходимые контакты в нужный момент времени. При проведении экспериментов головка принтера регулярно промывалась. В принтер была встроена помпа, которая выполняла две функции. Во-первых, она собирала остатки чернил с печатающей головки при ее парковке. Во-вторых, помпа промывала головку в случае ее засорения, прогоняя значительный объем чернил через сопла. После этого чернила через специальную трубку попадали в специальную войлочную

прокладку. Отметим, что при одной промывке печатающей головки расходовалось 20% от всего объема чернил в картридже. Следовательно, после 5 промывок печатающей головки картридж необходимо было заправлять заново. Чтобы избежать этого, система отвода чернил также была модернизирована, и все чернила из помпы собирались в специальную емкость.

Для биопечати использовали 0,1%- и 0,15%-ный растворы коллагена в 0,3 М уксусной кислоте. Для контроля однородности раствора и детектирования в нем нерастворенных частиц использовался лазерный дифрактометр Mastersizer Micro.

МЕТОДЫ АНАЛИЗА МОРФОЛОГИИ И ТОПОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТРИКСОВ

А) Сканирующая электронная микроскопия

Микроструктуру поверхности биополимерных матриксов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на электронном микроскопе JSM 6360LA (JEOL, Япония) при ускоряющих напряжениях 5–10 кВ и увеличении от 200 до 10 000. Необходимое для электронно-микроскопических исследований токопроводящее покрытие получали методом ионного напыления в течение 40 с при постоянном токе 30 мА на установке JFC-1600 Auto Fine Coater (JEOL, Япония). В качестве напыляемого материала применяли платину.

Б) Атомно-силовая микроскопия

Внутреннюю микро- и наноструктуру образцов анализировали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) высокого разрешения, используя сканирующий зондовый микроскоп (СЗМ) модели Р47-PRO. Это универсальный прибор для комплексных исследований топографии различных объектов с высоким разрешением (~ 10 нм) на воздухе, в жидкостях и контролируемой газовой атмосфере, при температуре до 150 °С.

Измерения проводили также на зондовом микроскопе ИНТЕГРА Томо (NT-MDT, Москва), совмещенном с ультрамикротомом Leica UC6NT. Данный комплекс приборов позволяет по послойным атомно-силовым изображениям сверхтонких срезов (<100 нм) восстанавливать трехмерное изображение внутренней структуры образца. Для получения сверхтонких срезов образцы биополимеров предварительно заливали эпоксидной смолой. Изображения регистрировали с помощью неконтактных кремниевых зондовых датчиков серии NSG10S (NT-MDT) с резонансной частотой 200–300 кГц и жесткостью около 10 Н/м, типичный радиус кри-

визны острия которых был менее 10 нм. Измерения проводили полуконтактным методом, с начальной амплитудой колебаний зонда 10–20 нм. Величину рабочей амплитуды колебаний зонда подбирали экспериментально. Сканирование проводили с частотой строк 1,5 Гц с разрешением 256 × 256 точек.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

А) Электроспиннинг

Было проделано несколько серий экспериментов по получению матриксов при различных значениях параметров процесса, таких как напряжение между иглой и подложкой, расстояние между ними и концентрация полимера в растворе. Было показано, что оптимальными параметрами являются расстояния в диапазоне от 7 до 20 см, напряжения от 15 до 25 кВ, концентрации полимера в растворе от 5 до 10%.

При напряжениях, больших 25 кВ и больших расстояниях (>10 см) в шприце происходил пробой. На маленьких расстояниях (<10 см) пробой происходил между иглой и подложкой. При расстояниях <7 см растворитель не успевал полностью испариться, поэтому во время эксперимента наблюдали в основном не нити, необходимые для формирования матрицы, а разлетающиеся капли. Тот же эффект наблюдали при концентрациях полимера меньше 5%. При увеличении концентрации полимера выше 10% было обнаружено появление коллоидных частиц полимера в растворе и на подложке.

Было проведено несколько серий экспериментов, в которых концентрация полимера в растворе варьировалась в пределах 5–10% весовых, расстояние от иглы до подложки h изменялось от 10 до 20 см, а скорость подачи раствора составляла 0,2–0,4 мл/мин. Типичные электронно-микроскопические фотографии образцов, полученных в этих экспериментах, представлены на рис. 3.

В результате обработки полученных данных был представлен график зависимости среднего диаметра волокон от расстояния h , показанный на рис. 4. Из данного графика видно, что диаметр волокон d увеличивается с увеличением расстояния между иглой и подложкой h , что находится в соответствии с теоретической оценкой, представленной следующей зависимостью:

$$d \sim E^{-0.5} = \left(\frac{h}{U} \right)^{0.5}.$$

Трехмерная морфология полученных матриксов была исследована с помощью технологии ИНТЕГРА Томо. Трехмерные структуры, полученные в результате восстановления срезов послойных изображений, представлены на рис. 5. В результате обработки полученных трехмерных изображений было установлено, что размер ячеек матрицы в зависимости от ус-

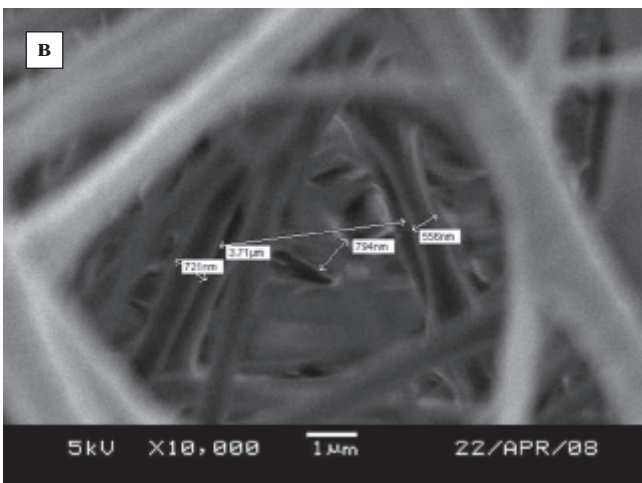
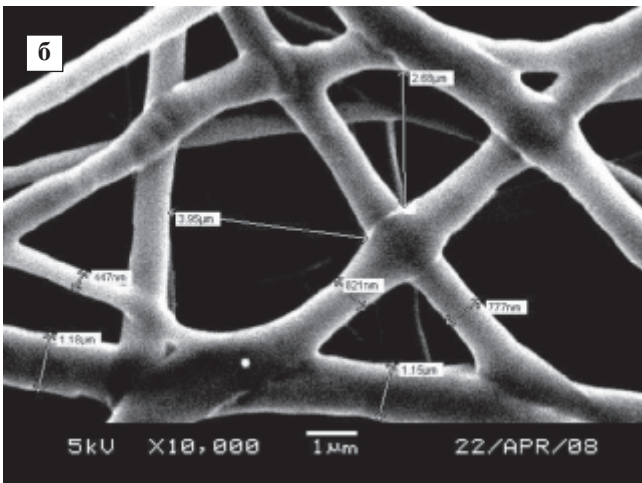
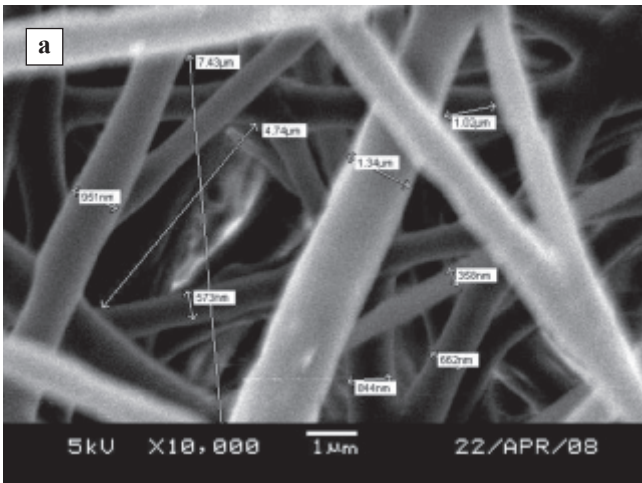


Рис. 3. Электронно-микроскопические снимки матриц, полученных методом электроспиннинга при различных расстояниях до подложки – 10 (а), 15 (б) и 20 (в) см

ловий ее формирования меняется в пределах от 2 до 7 микрон, диаметр волокна составляет 500–2000 нм, а пористость структуры варьируется от 75 до 95%.

Б) Биопринтирование

Для осуществления процесса биопечати печатающую головку принтера соединяли с резервуаром, содержащим раствор коллагена. С помощью встроенной

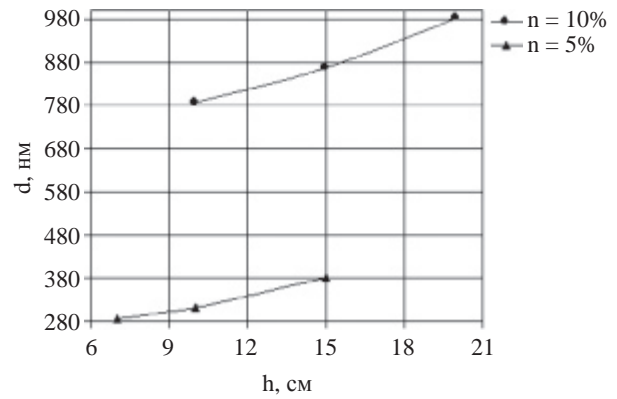


Рис. 4. Зависимость среднего диаметра волокон d от расстояния между подложкой и иглой h

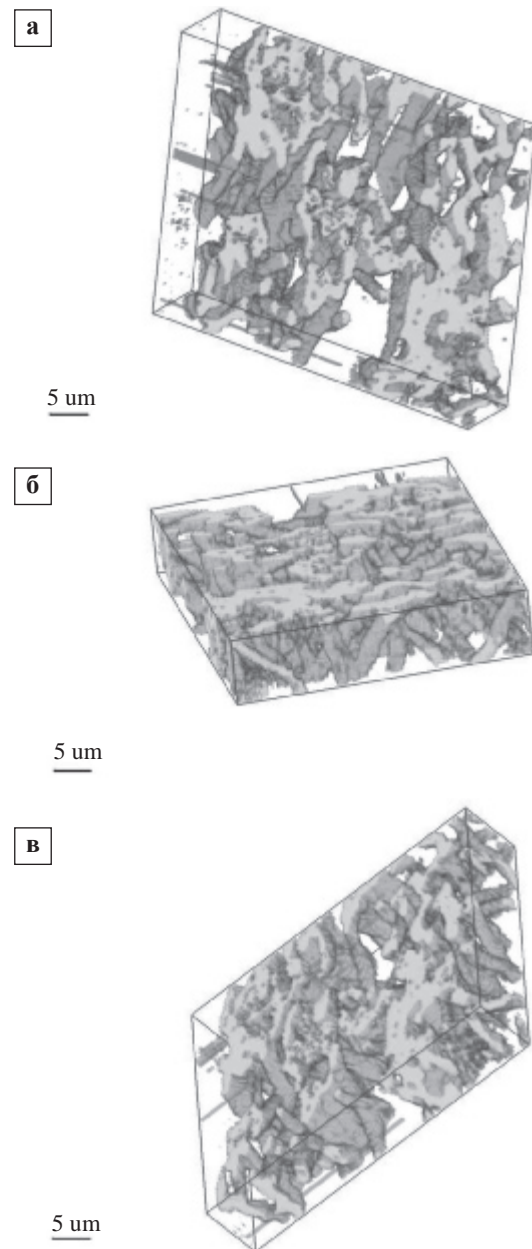


Рис. 5. Матрикс из ПОБ в различных проекциях, полученный методом электроспиннинга: а – 90°; б – 0°; в – 180°. Изображения получены с помощью сканирующей зондовой микроскопии по технологии ИНТЕГРА Томо

в принтер помпы внутренние полости печатающей головки заправляли раствором коллагена. На основании принтера устанавливали подложку, на которую предполагалось наносить заранее заданный рисунок. С помощью управляющего компьютера через драйвер принтера на печать отправляли нужный символ или изображение. После визуального контроля и испарения воды с поверхности подложки печать повторяли. После завершения многослойной печати подложку снимали с принтера для дальнейшего ее анализа. После печати картридж промывали дистиллированной водой и сушили при комнатной температуре.

Эксперименты были проведены с использованием модернизированного принтера Epson color 200 с печатающей головкой, использующей режим черно-белой печати в стандарте «черновик». Были получены образцы на стекле и на полимерной пленке. Каждое изображение пропечатывалось 5 раз. Микрофотографии полученных структур представлены на рис. 6, 7.

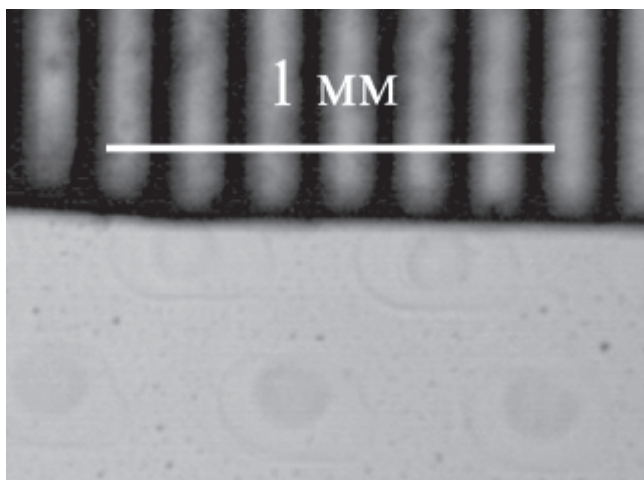


Рис. 6. Микрофотография коллагенового матрикса, полученного методом биопринтирования (оптический микроскоп)

На микрофотографиях видно, что капли имеют вытянутую форму в направлении движения печатающей головки. В некоторых режимах наблюдается слияние отдельных капель в один объект. Характерный размер капель составляет от 250 до 500 мкм. На микрофотографиях, полученных с помощью электронного микроскопа, видна центральная выпуклость круглой формы размером 150 мкм. По-видимому, такая структура образуется в процессе высыхания капли под действием сил поверхностного натяжения.

ВЫВОДЫ

Установлено, что посредством изменения параметров процесса электроспиннинга можно варьировать толщину биополимерных нитей в пределах от сотен нанометров до нескольких микрон. Разработанная методика позволяет также регулировать морфологические характеристики матрикса, формируемого из полиоксибутирата, такие как пористость и отношение поверхности к объему.

С использованием метода биопринтирования возможно формирование из коллагена структур заранее заданной формы. С использованием модернизированного принтера Epson color 200 с печатающей головкой, использующей режим черно-белой печати, были получены коллагеновые структуры с разрешением 150–200 микрон.

Работа выполнена частично при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям, госконтракт 02.512.11.2236.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. Полиоксиалканоаты (ПОА) – биоразрушаемые полимеры для медицины / Под ред. В.И. Шумакова. Новосибирск: Изд. СО РАН, 2003. 330 с.

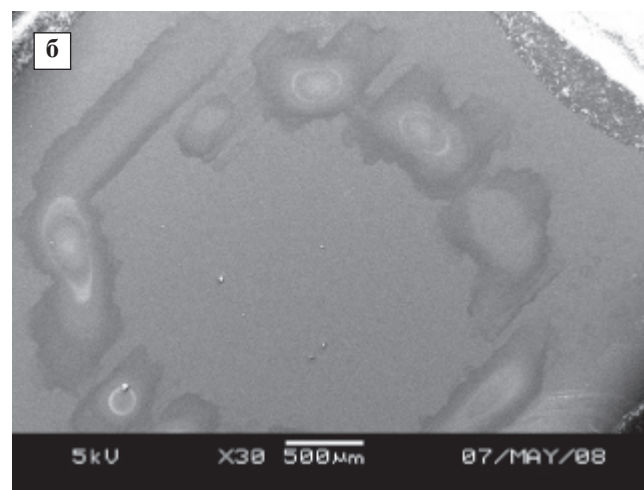
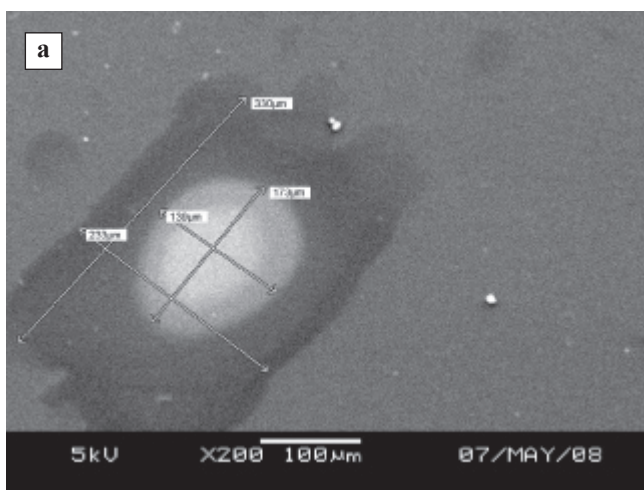


Рис. 7. Микрофотографии коллагенового матрикса, полученного методом биопринтирования (сканирующий электронный микроскоп)

2. Хилькин А.М., Шехтер А.Б., Истранов Л.П., Лемнев В.Л. Коллаген и его применение в медицине. М.: Медицина, 1976. 210 с.
3. Boland T., Mironov V., Gutowska A., Roth E.A., Markwald R.R. Cell and Organ Printing 2: Fusion of Cell Aggregates in Three-Dimensional Gels // The Anatomical record Part A. 2003. V. 272A. P. 497–502.
4. Jakab K., Norotte C., Damon B., Marga F. et al. Tissue Engineering by Self-Assembly of Cells Printed into Topologically Defined Structures // Tissue Engineering Part A. 2008. V. 14. № 3. P. 413–421.
5. Ho M.-H., Kuo P.-Y., Hsieh H.-J., Hsieh T.-Y. et al. Preparation of porous scaffolds by using freeze-extraction and freeze-zeleation methods // Biomaterials. 2004. V. 25. P. 129–138.
6. Hohman M.M., Shin M., Rutledge G., Brenner M.P. Electrospinning and electrically forced jets. I. Stability theory // Physics of Fluids. 2001. V. 13. № 8. P. 231–238.
7. Li M., Guo Y., Wei Y., MacDiarmid A.G., Lelkes P.I. Electrospinning polyaniline-contained gelatin nanofibers for tissue engineering applications // Biomaterials. 2006. V. 27. P. 2705–2715.
8. Ponticciello M.S., Schinagl R.M., Kadiyala S., Barry P. Gelatin-based resorbable sponge as a carrier matrix for human mesenchymal stem cells in cartilage regeneration therapy // J. Biomed. Mater. Res. 2000. V. 52 (2). P. 246–255.
9. Mironov V., Prestwich G., Forgacs G. Bioprinting living structures // J. Mater. Chem. 2007. V. 17. P. 2054–2060.
10. Sumerel J., Lewis J., Doraiswamy A., Deravi L.F. et al. Piezoelectric ink jet processing of materials for medical and biological applications // Biotechnol. J. 2006. V. 1. P. 976–987.
11. Wilson W.C., Boland T. Cell and Organ Printing 1: Protein and Cell Printers // The anatomical record Part A. 2003. V. 272A. P. 491–496.
12. Zonga X., Bienc H., Chungc Y.C. et al. Electrospun fine-textured scaffolds for heart tissue constructs // Biomaterials. 2005. V. 26. P. 5330–5338.

КАЛЕНДАРЬ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ НА 2009 ГОД

Дата	Мероприятие	Место проведения; организация, ответственная за проведение
19–20 мая	II Всероссийская конференция «Донорство органов – ключевая проблема трансплантологии»	г. Москва ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова», 123182, ул. Щукинская, 1 Тел.: (499)190-38-77 (499)190-53-41 e-mail: transplant2009@mail.ru
2 октября	Всероссийская конференция «Трансплантология, XXI век» (к 40-летию ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова»)	г. Москва ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова», 123182, ул. Щукинская, 1 Тел.: (499)190-38-77 (499)190-53-41 e-mail: transplant2009@mail.ru
3–4 декабря	Всероссийская конференция «Инфекции в трансплантологии»	г. Москва ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова», 123182, ул. Щукинская, 1 Тел.: (499)190-38-77 (499)190-53-41 e-mail: transplant2009@mail.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МАТРИКСА ИЗ РЕКОМБИНАНТНОЙ ПАУТИНЫ

Пустовалова О.Л.¹, Агапов И.И.², Мойсенович М.М.¹, Еремин П.С.¹, Казюлина А.А.¹, Архипова А.Ю.¹, Рамонова А.А.¹, Богущ В.Г.³, Севастьянов В.И.², Кирпичников М.П.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, г. Москва

²ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития, г. Москва

³ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов», г. Москва

Изучена жизнеспособность и динамика распределения мышинных фибробластов 3Т3 в матрице на основе рекомбинантного белка каркасной нити паутины спидроина 1 при длительном культивировании. Показана возможность и преимущества использования конфокальной микроскопии как для визуализации клеток, находящихся в глубоких слоях трехмерной матрицы, так и для наблюдения за изменением состояния культивируемых клеток. Популяция фибробластов сохраняла высокие показатели жизнеспособности и пролиферативной активности, а инфильтрация матрицы клеточной популяцией становилась однородной в течение длительного времени культивирования. Это позволяет рассматривать матрицы на основе спидроина 1 в качестве перспективного материала для создания биоинженерных конструкций.

Ключевые слова: тканевая инженерия, рекомбинантная паутина

CONFOCAL MICROSCOPY STUDY OF BIOLOGICAL PECULIARITIES OF SCAFFOLD MADE FROM RECOMBINANT SPIDER SILK

Pustovalova O.L.¹, Agapov I.I.², Moisenovich M.M.¹, Eremin P.S.¹, Kazulina A.A.¹, Arhipova A.Y.¹, Ramonova A.A.¹, Bogush V.G.³, Sevastianov V.I.², Kirpichnikov M.P.¹

¹Moscow State University, biological faculty

²Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

³State Scientific Center «GNllgenetika»

We studied the viability and dynamic of cell distribution during long-term cultivation of fibroblasts 3T3 in spider silk spidroin 1-based scaffold. Laser scanning confocal microscopy is shown to have advantages for visualization of cells situated on the external and internal surfaces of scaffold. Fibroblasts maintain high proliferative ability and viability during long term cultivation. Spidroin 1-based scaffold are the perspective materials for bioengineering.

Key words: tissue engineering, recombinant spider silk

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время большими темпами развиваются биотехнологические методы создания ткане-

инженерных конструкций, которые находят применение в области регенеративной медицины для восстановления тканей и органов. Для создания

Статья поступила в редакцию 12.02.09 г.

Контакты: Агапов Игорь Иванович, зав. лабораторией бионанотехнологий ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития. Тел. (499) 190-66-19, e-mail: igor_agapov@mail.ru

таких конструкций культивируют аутологичные пролиферирующие комитированные или стволовые клетки на матрицах носителях. Матрицы определяют форму будущего трансплантата, обеспечивают необходимую механическую прочность и трехмерное ориентирование клеток [8]. В качестве материалов для изготовления матриц применяют керамические композиты, синтетические алифатические полиэфиры и биополимеры. Наиболее перспективными являются биодegradуемые материалы, которые после имплантации будут замещены естественной тканью, но способные в течение необходимого для этого времени выполнять биомеханические функции [6, 9, 13]. Преимуществом биополимеров является то, что при их деградации не образуются токсичные продукты. Биополимеры на основе коллагена, эластина и фибронектина часто используют в качестве основы для создания матриц [13]. Их главным недостатком является низкая механическая прочность получаемых конструкций, которая ограничивает возможности их применения. Многообещающими материалами являются биополимеры на основе белков шелка шелкопряда и каркасной нити паутины, которые позволяют синтезировать разнообразные по структуре матрицы с высокими показателями механической прочности [3–5, 7] и низкой иммуногенностью [11]. В.Г. Богуш и сотрудники разработали метод получения рекомбинантного белка спидроина 1, входящего в состав каркасной нити паука *Nephila clavipes* [2]. Ранее мы показали, что такие матрицы способствуют адгезии и пролиферации эукариотических клеток и не оказывают токсического действия на культуру [11]. Применение матриц для создания тканей и органов предполагает необходимость долговременного поддержания жизнеспособной популяции клеток. Целью настоящей работы было изучение динамики распределения клеток и изменения жизнеспособности при культивировании в матрице из спидроина 1. В качестве метода, позволяющего наблюдать за клетками на внешней поверхности и в глубине матрицы, использовали метод лазерной конфокальной микроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение трехмерной матрицы из спидроина 1

Матрицу из рекомбинантного белка спидроина 1 получали методом выщелачивания. Для этого растворяли в 50 мкл раствора 10% хлорида лития и 90% муравьиной кислоты навеску 15 г лиофилизированного белка. Далее раствор центрифугировали в течение 10 минут при 11 300 g и супернатант смешивали с NaCl в соотношении около 1 : 2. Раз-

мер использованных кристаллов NaCl определяет размер пор будущей матрицы. Мы использовали кристаллы диаметром 200–400 мкм. Из полученной полимерной массы формировали диск диаметром 10 мм и толщиной около 1 мм, высушивали его при комнатной температуре. Для культивирования клеток готовую матрицу промывали дистиллированной водой, дегазировали и стерилизовали, погружая в 96% этанол.

Культивирование мышинных фибробластов 3Т3 в матрице из спидроина 1 и на плоской поверхности

Для культивирования мышинных фибробластов 3Т3 образцы матрицы помещали в лунки 24-луночной платы и добавляли 2500 клеток 3Т3, суспендированных в 300 мкл среды культивирования. Через 2 ч образцы переносили в соседние лунки, содержащие 1 мл среды культивирования. Время культивирования клеток достигало двух недель. Жизнеспособность клеток в матрице сравнивали с культурой на плоскости. Для этого суспензию фибробластов 3Т3 в заведомо меньшей концентрации рассеивали на поверхности культуральных стекол. Через 2 ч отмывали не прикрепившиеся клетки и инкубировали в течение недели.

Конфокальная микроскопия для визуализации клеток в трехмерном пространстве матрицы

Для изучения клеток, расположенных на внутренней и наружной поверхности матрицы после культивирования, образцы исследовали методом конфокальной микроскопии. Для изучения инфильтрации матрицы клетками образцы фиксировали 30 мин 4% формалином и обрабатывали 10 мин 0,1% тритоном X100 в ФСБ для пермеабелизации клеточных мембран. Для выявления ядер препараты инкубировали в растворе SYTOX Green (Invitrogen, USA) в течение 20 мин при постоянном помешивании, что улучшает циркуляцию раствора через толщу матрицы и увеличивает доступность красителя для клеток, расположенных на ее внутренних поверхностях. Изображения клеток на поверхности матрицы получали с использованием лазерных сканирующих микроскопов Leica TCS SP5 и Zeiss Axiovert 200M LSM510 META с объективами Plan-Neofluar 20x/0,5 и Plan-Neofluar 10x/0,3. Настройки пинхола проводили в соответствии с инструкциями производителя. Исследовали клетки, расположенные на наружной поверхности и на глубине до 600 мкм. Для количественного анализа изучали изображения, состоящие из серии оптических срезов, выполненных

с интервалом 0,64 или 1 мкм. Количество клеток определяли по числу визуализированных ядер. Для анализа использовали функциональные возможности приложения 3D for LSM Version 1.4.2. С его помощью получали высококонтрастные изображения в черно-белом режиме, позволяющем отделить от фона воксели, соответствующие ядрам. Подсчет количества ядер на трехмерных изображениях осуществлялся автоматически, основываясь на количестве контрастных структур, соответствующих по объему среднему размеру ядер изучаемых клеток.

Определение жизнеспособности клеток при культивировании в матриксе из спидроина 1

Для определения жизнеспособности клеток при культивировании в матриксе и на плоской поверхности использовали дифференциальный метод визуализации клеток с помощью красителей SYTO 9 (Invitrogen) и пропидиум йодида (Sigma). Метод основан на избирательной проницаемости поврежденных мембран мертвых клеток для пропидиум йодида, аффинного к нуклеиновым кислотам. SYTO 9, согласно инструкциям производителя, выявляет ядра и слабо окрашивает цитоплазму живых эукариотических клеток. Количество живых и мертвых клеток определяли по числу ядер, выявленных SYTO 9 и пропидиум йодидом. Количественный анализ проводили по описанной выше процедуре с использованием микроскопа Zeiss Axiovert и объектива Plan-Neofluar 20x/0,5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Конфокальная микроскопия для визуализации клеток в трехмерном пространстве матрицы

Для культивирования мышинных фибробластов в трехмерном пространстве использовали матрицу, синтезированную на основе рекомбинантного белка спидроина 1. Матрица имеет пористую структуру с диаметром пор 200–400 мкм, обеспечивающую необходимые условия для культивирования. Поры матрицы, соединенные отверстиями и каналами, образуют сложную незамкнутую внутреннюю поверхность, способствующую однородной инфильтрации клетками внутренних слоев. Материал, из которого она изготовлена, способен поддерживать клеточную адгезию и пролиферацию клеток [1]. Для создания тканеинженерных конструкций необходимо длительное культивирование клеток, и матрицы-носители, являющиеся основой для таких конструкций, должны способствовать сохранению

пролиферативной активности культуры и поддерживать высокие показатели ее жизнеспособности. Для наблюдения за распределением клеток в трехмерном пространстве в процессе культивирования и изменением ее жизнеспособности наиболее информативными являются методы трехмерной микроскопии. Эти методы являются альтернативой сложным процедурам, связанным с трехмерным моделированием изображений, полученных при приготовлении механических срезов [14].

Изучение распределения клеток в матрице в процессе культивирования проводили методом лазерной сканирующей микроскопии. Этот метод визуализации клеток, находящихся в глубоких слоях матрицы, позволяет сохранить ее пространственную организацию, которая неизбежно нарушается при приготовлении срезов. Однородность инфильтрации матрицы клетками отражает соотношение средней плотности культуры клеток в поверхностных и глубоких слоях. Через сутки после посева суспензии фибробластов 3Т3 на поверхность матрицы определяли среднюю плотность клеточной популяции на глубине до 150 мкм и от 300 до 450 мкм. В наружном слое средняя плотность была в 8 раз больше, чем во внутреннем. Через 9 дней культивирования плотность клеток в наружном и внутреннем слоях была приблизительно одинаковой. Увеличение общего количества клеток в наружном и внутреннем слоях также было неравномерным: на глубине до 150 мкм через 9 дней культивирования количество клеток возрастало в 2,5 раза, а на глубине более 300 мкм – в 11 раз. Достижение однородности распределения фибробластов при культивировании в матрице отчасти объясняется активной миграцией клеток во внутренние слои [10, 12].

Увеличение количества клеток в матриксе при длительном культивировании свидетельствует о пролиферации фибробластов. Клетки, находящиеся в процессе деления, можно выявить по наличию митотического веретена (рис. 1). Такие клетки были обнаружены в наружных и в глубоких слоях матрицы на протяжении всего времени культивирования. Присутствие делящихся фибробластов характерно для клеточной популяции, находящейся в стадии роста. Интенсивное увеличение количества клеток во внутренних слоях матрицы может объясняться большей скоростью пролиферации, которая на поверхности ингибируется контактным торможением при формировании монослоя из-за высокой плотности рассеиваемой суспензии. Достижение монослоя при культивировании является стадией плато для развивающейся популяции клеток. На этой стадии увеличивается количество клеток, вступающих в апоптоз, и жизнеспособность клеточной культуры уменьшается. Для оценки жизнеспособности клеточной популяции на внешней поверхности и

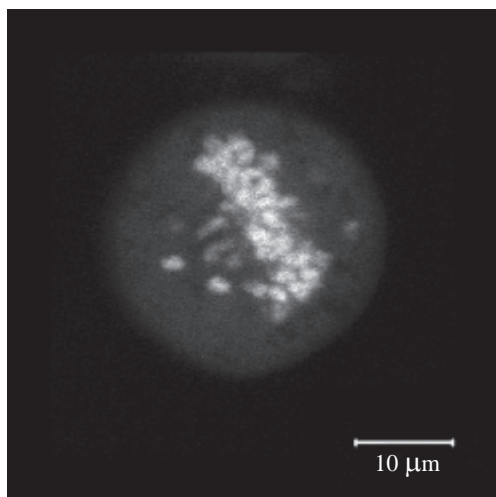


Рис. 1. Фибробласты в процессе деления, выявляемые по наличию митотического веретена. Ядерный материал выделен SYTOX Green

в глубине матрицы могут быть использованы возможности конфокальной микроскопии.

Жизнеспособность клеток при культивировании на поверхности и в глубине матрикса из спидроина 1

Количественным показателем жизнеспособности культуры является соотношение числа живых и мертвых клеток. Увеличение количества мертвых клеток связывают с уменьшением жизнеспособности клеточной популяции. Для визуализации живых и мертвых клеток использовали метод, основанный на избирательной проницаемости для пропидиум йодида, аффинного к нуклеиновым кислотам, для поврежденных клеточных мембран. Для визуализации живых клеток использовали SYTO 9, аффинный к нуклеиновым кислотам, который, так же как и пропи-

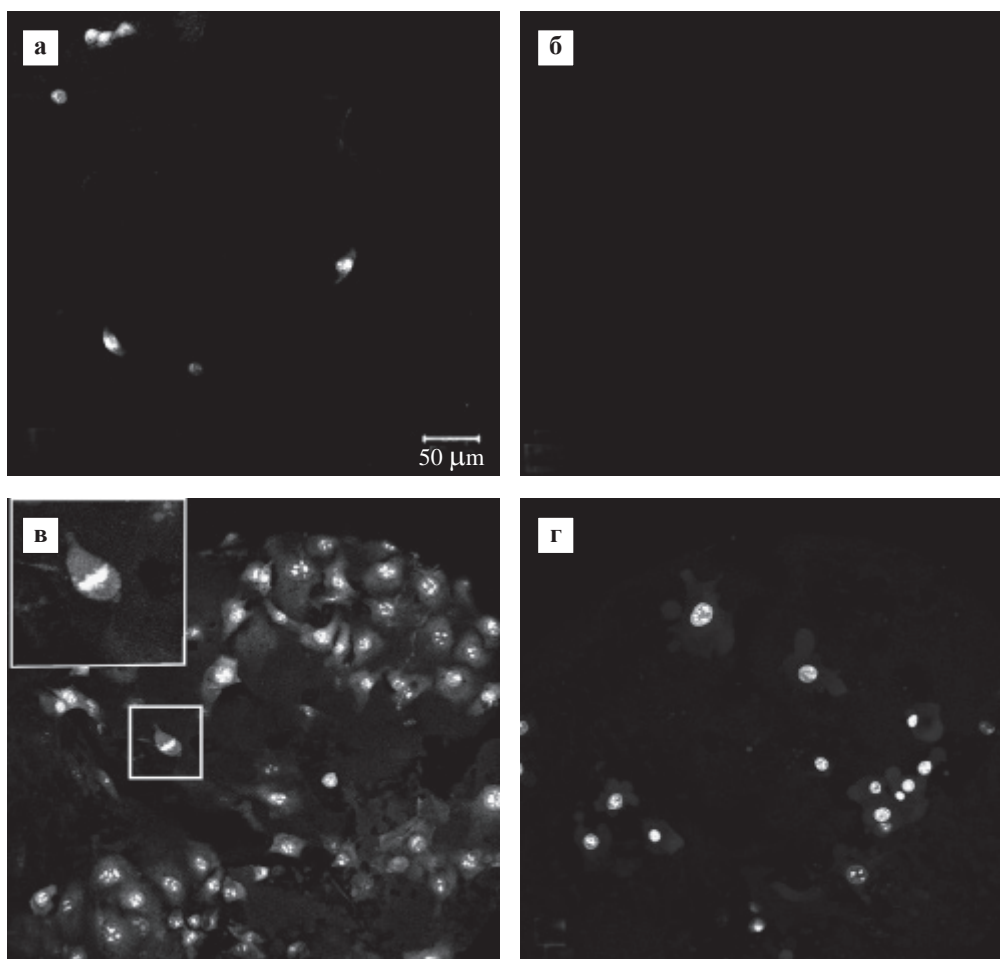


Рис. 2. Изменение жизнеспособности клеточной популяции при культивировании фибробластов в матрице из спидроина 1. Через сутки культивирования на поверхности матрицы присутствовали живые клетки, выявленные SYTO 9 (а); мертвые клетки, ядра которых визуализировали пропидиум йодидом, не обнаружены (б). В популяции присутствует значительное количество делящихся клеток, выявляемых по наличию веретена деления. Через 7 сут культивирования количество фибробластов возросло (в); были выявлены мертвые клетки (г). Представлены изображения внешней поверхности

диум йодид, выявляет ядра и в меньшей степени – цитоплазму. Изучение поверхности матрицы в первые сутки культивирования фибробластов показало, что 100% клеток жизнеспособны (рис. 2, а, б). Увеличение времени культивирования приводит к появлению мертвых клеток. Но рост популяции клеток продолжается, и выявляются клетки, находящиеся в процессе митоза (рис. 2, в). Через 7 дней, по мере инфильтрации фибробластами внутренних слоев матрицы, количество живых клеток снижается до 87%. Сравнение полученных данных проводили с динамикой роста культуры фибробластов на плоскости. В первый день культивирования 100% фибробластов, рассеянных на поверхность культурального стекла, так же, как и на матриксе, были жизнеспособными. Но через неделю культивирования, при достижении популяцией фибробластов стадии конfluence, процент жизнеспособных клеток также уменьшился и составил около 80% (рис. 3). Возможность длительного поддержания жизнеспособности культивируемых клеток в матрице связывают с большей площадью поверхности в трехмерном пространстве. Но жизнеспособность культуры на поверхности и в глубине матрицы существенно отличается. Большое количество мертвых клеток находится на внешней поверхности матрицы и уже на глубине более 60 мкм значительно снижается. На глубине до 60 мкм соотношение живых и мертвых клеток достигало 3 : 1, а на глубине более 60 мкм – не менее 8 : 1 (рис. 4). Несмотря на то что распределение клеток при долговременном культивировании становится гомогенным в поверхностных и внутренних слоях, жизнеспособность клеточной популяции в глубине матрицы больше. Резкое уменьшение показателей жизнеспособности культуры на поверхности, вероятно, также связано с достижением стадии конfluence. Поддержание адгезии, пролиферации и

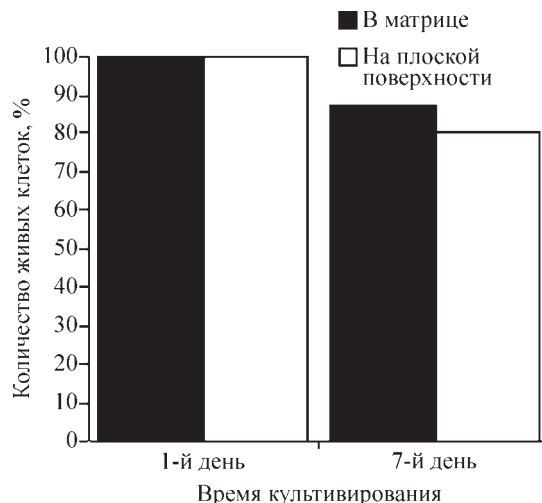


Рис. 3. Жизнеспособность фибробластов 3Т3 при культивировании в матрице из рекомбинантной паутины или на плоской поверхности. Жизнеспособность выявляли по количеству живых клеток в культуре, ядра которых визуализированы SYTO 9

жизнеспособности клеток в матриксе из спидроина 1 свидетельствует о формировании благоприятного микроокружения в глубоких слоях матрицы, и требуется дополнительный подбор условий для улучшения показателей жизнеспособности трехмерной культуры в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показана возможность использования конфокальной микроскопии как для визуализации клеток, находящихся в глубоких слоях трехмерной матрицы, так и для наблюдения за изменением состояния культивируемых клеток. Использование матрицы-носителя имеет

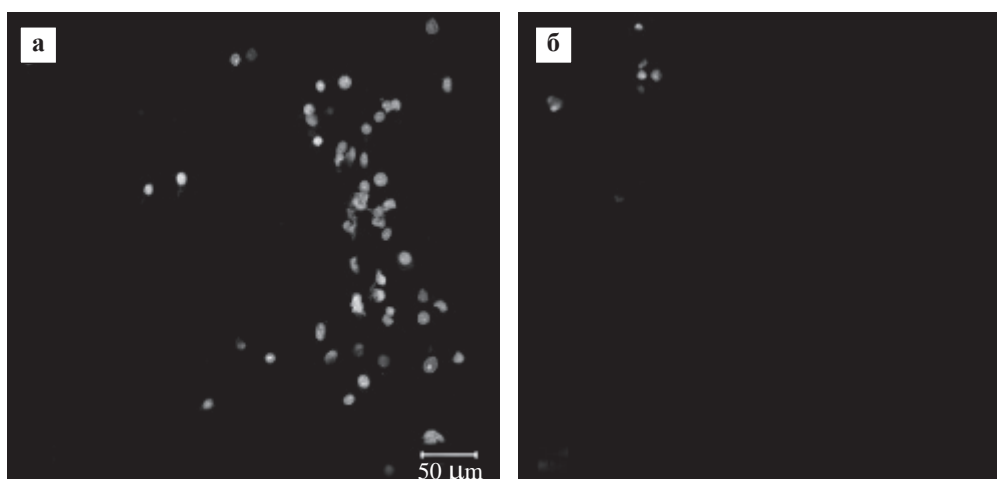


Рис. 4. Нежизнеспособные клетки, выявляемые конфокальной микроскопией в поверхностных слоях матрикса (а) и на глубине 100–120 мкм (б) при культивировании фибробластов 3Т3 в течение 7 дней. Ядра мертвых клеток выявлены пропидиум йодидом. Представлена горизонтальная проекция серии оптических срезов матрицы из спидроина 1 на глубине до 20 мкм и на глубине 100–200 мкм общей площадью 0,6 мм²

преимущества для долговременного культивирования клеток по сравнению с культивированием на плоскости. Это связано со значительно большей площадью поверхности трехмерной структуры и большим временем, необходимым для достижения культуры стадии конfluence. Для создания трехмерной культуры использован матрикс на основе рекомбинантного белка спидроина I. Адгезия, пролиферация и высокие показатели жизнеспособности обуславливаются и поддерживаются свойствами структуры и материала, из которого изготовлена матрица. Эти необходимые для долговременного культивирования эукариотических клеток свойства делают потенциально возможным использование таких матриц для создания биоинженерных конструкций.

Работа была частично профинансирована Российским Фондом фундаментальных исследований (гранты № 09-02-00173, 06-04-49464-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агапов И.И., Пустовалова О.Л., Мойсенович М.М. Трехмерный матрикс из рекомбинантного белка паутины для тканевой инженерии // Доклады Академии наук. 2009. Т. 426 (1). С. 1–4.
2. Богуш В.Г., Сазыкин А.Ю., Давыдова Л.И. и др. Получение, очистка и прядение рекомбинантного аналога спидроина I // Биотехнология. 2006. № 4. С. 3–12.
3. Gellynck K., Verdonk P., Almqvist K.F. et al. Chondrocyte Growth in Porous Spider Silk 3D-Scaffolds // European Cells and Materials. 2005. V. 10. Suppl. 2. P. 45.
4. Gellynck K., Verdonk P.C., Van Nimmen E. et al. Silk-worm and spider silk scaffolds for chondrocyte support // Journal of materials science. Materials in medicine. 2008. V. 19 (11). P. 3399–3409.
5. Altman G.H., Diaz F., Jakuba C. et al. Silk-based biomaterials // Biomaterials. 2003. V. 24 (3). P. 401–416.
6. Dawson E., Mapili G., Erickson K. et al. Biomaterials for stem cell differentiation // Advanced drug delivery reviews. 2008. V. 60 (2). P. 215–228.
7. Kluge J.A., Rabotyagova O., Leisk G.G. et al. Spider silks and their applications // Trends in biotechnology. 2008. V. 26 (5). P. 244–251.
8. Lee J., Cuddihy M.J., Kotov N.A. Three-dimensional cell culture matrices: state of the art // Tissue engineering. Part B, Reviews. 2008. V. 14 (1). P. 61–86.
9. Ma P.X. Biomimetic materials for tissue engineering // Advanced drug delivery reviews. 2008. V. 60 (2). P. 184–198.
10. Mandal B.B., Kundu S.C. Cell proliferation and migration in silk fibroin 3D scaffolds Biomaterials. 2009. Epub ahead of print.
11. Panilaitis B., Altman G.H., Chen J., Jin H.J. et al. Macrophage responses to silk // Biomaterials. 2003. V. 24 (18). P. 3079–3085.
12. Raebbera G.P., Lutolf M.P., Hubbell J.A. Mechanisms of 3-D migration and matrix remodeling of fibroblasts within artificial ECMs // Acta Biomaterialia. 2007. V. 3 (5). P. 615–629.
13. Sachlos E., Czernuszka J.T. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds // European cells & materials. 2003. V. 30 (5). P. 244–251.
14. Thevenot P., Nair A., Dey J. et al. Method to Analyze Three-Dimensional Cell Distribution and Infiltration in Degradable Scaffolds // Tissue Engineering Part C: Methods. 2008. V. 14 (4). P. 319–331.

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У РЕЦИПИЕНТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ И ОСНОВНЫХ НАПРАВЛЕНИЯХ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Хубутия М.Ш., Чжао А.В., Шадрин К.Б.

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

В статье представлен анализ данных научной литературы последних 15 лет об осложнениях после ортотопической трансплантации печени в зависимости от тяжести исходного статуса реципиентов и выраженности метаболических и функциональных нарушений. Проведена оценка факторов, влияющих на развитие осложнений со стороны сосудистой системы (артериальный и венозный тромбоз), желчевыводящих путей (холестаз, холангит), иммунной системы (криз острого отторжения), а также хирургических и инфекционных осложнений и функциональной недостаточности трансплантата. Обоснована необходимость усовершенствования мониторинга в ближайшем посттрансплантационном периоде.

Ключевые слова: трансплантация печени, осложнения

POSTOPERATIVE COMPLICATIONS IN LIVER TRANSPLANT RECIPIENTS: MODERN CONSIDERATIONS OF PATHOGENESIS AND MAIN AREAS OF PROPHYLAXIS AND TREATMENT

Khubutia M.Sh., Zhao A.V., Shadrin K.B.

Sklifosovsky Research Institute for Emergency, Moscow

The article presents analysis of scientific literature of the last 15 years about complications after orthotopic liver transplantation, depending on the severity of the initial status of recipient and expression of metabolic and functional disorders. Factors affecting the development of vascular complications (arterial and venous thrombosis), biliary complications (cholestasis, cholangitis), immune response (acute rejection), and also surgical and infectious complications and functional insufficiency of the graft are analyzed in this review. The necessity to improve monitoring in the immediate post transplant period is considered.

Key words: liver transplantation, complications

ВВЕДЕНИЕ

За последние 10 лет ортотопическая трансплантация печени (ОТП) стала распространенной процедурой лечения терминальной стадии заболеваний печени, ежегодная потребность в этой операции составляет 10–20 на 1 млн населения [2, 8, 11]. Внедрение трансплантации печени в повседневную практику дает шансы на излечение многих пациентов с заболеваниями печени, ранее считавшихся бесперспективными в плане исхода. С накоплени-

ем опыта улучшились результаты операций, о чем свидетельствуют многочисленные публикации. По данным D.C. Broering et al. (2004), анализ данных за 12 лет позволил отметить снижение частоты осложнений у реципиентов каждые 4 года с 53,8% до 23,4% и затем до 9,2% [14]. Оценка результатов 100 трансплантаций правой доли печени от живого донора, проведенная специалистами клиники университета Гонконга в 2005 г., продемонстрировала снижение летальности реципиентов с 16% на первые 50 операций до 0 в последующем, увеличение

Статья поступила в редакцию 16.02.09 г.

Контакты: Чжао Алексей Владимирович, д. м. н., профессор, руководитель Московского городского центра трансплантации печени на базе НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. **Тел.** 8-903-618-32-95, **e-mail:** zhaov@rambler.ru

1- и 2-годичной выживаемости трансплантата с 80 и 74% до 100 и 96% соответственно [23]. Сегодня более 80% пациентов после трансплантации печени живут более 5 лет, и многие из них социально реабилитированы [8].

Несмотря на большое количество сообщений, посвященных проблеме ортотопической трансплантации печени, до настоящего времени актуальной остается проблема послеоперационных осложнений у таких пациентов. Тяжесть исходного статуса реципиента, продолжительность и травматичность хирургического вмешательства и, как правило (около 80% случаев), компрометирующая на ранних этапах функция донорской печени, а также обязательная иммуносупрессивная терапия становятся объективными предпосылками для развития многочисленных осложнений [3, 19–21]. На сегодня необходимым представляется проведение исследований, направленных на оценку предоперационного статуса реципиентов и, в соответствии с этим, на оптимизацию алгоритмов послеоперационного наблюдения пациентов, которым выполняется ОТП, осуществление прогностической оценки развития осложнений и своевременное проведение адекватных лечебно-профилактических мероприятий.

Исходный статус потенциальных реципиентов как фактор риска трансплантации

Заболевания, при которых могут возникать показания к пересадке печени, объединяют в четыре основные группы патологических состояний:

- терминальная стадия хронических диффузных заболеваний печени, в том числе исходы гепатитов В и С;
- нарушения метаболизма на фоне врожденных дефектов развития гепатоцита;
- острая печеночная недостаточность;
- нерезектабельные очаговые заболевания печени, включая опухоли [2].

Основным контингентом, которому выполняют трансплантацию печени, являются больные циррозом печени различной этиологии. В листах ожидания трансплантационных центров пациенты с циррозом печени (ЦП) вирусной этиологии составляют более 30% от всех пациентов и занимают особое место, поскольку в настоящее время число таких больных неуклонно возрастает, что связано в первую очередь с ростом количества больных вирусными гепатитами В и С [6]. Хроническое течение этих заболеваний часто приводит к развитию цирроза печени и значительному увеличению на этом фоне риска развития гепатоцеллюлярной карциномы [12].

Состояние пациентов, нуждающихся в трансплантации печени, может варьировать от храни-

ческой усталости с умеренной желтухой до комы с тяжелой энцефалопатией и полиорганной недостаточностью. Практически у всех больных, поступающих для трансплантации печени, состояние оценивается как тяжелое или крайне тяжелое, поскольку почти каждый больной находится в терминальной стадии хронической или острой печеночной недостаточности [15, 17].

Значимость функций печени (синтетической, метаболической, дезинтоксикационной) в жизнеобеспечении обуславливает то, что терминальная стадия заболеваний печени отражается на функционировании практически всех систем организма. Так, для больных в терминальной стадии печеночной недостаточности характерна картина гипердинамического статуса сердечно-сосудистой системы со значительным повышением сердечного выброса, тахикардией, снижением общего периферического сосудистого сопротивления [5].

При заболеваниях, разрушающих нормальную печеночную архитектуру, развивается портальная гипертензия, в брюшной стенке, пищеводе, желудке, сальнике, забрюшинном пространстве образуются обширные варикозные венозные коллатерали, при этом вероятность профузных кровотечений из варикозных сосудов существенно увеличивается. В то же время разветвленная сеть артериовенозных анастомозов приводит к низкому системному сопротивлению сосудов и высокому сердечному выбросу. Увеличение сердечного выброса и объема циркулирующей крови при циррозе печени может вторично отражаться на легочном сосудистом русле с последующим развитием легочной гипертензии.

У больных в терминальной стадии заболеваний печени часто наблюдается внутрилегочное шунтирование, что способствует развитию гипоксемии. Повышение внутрибрюшного давления, связанное с гепатомегалией, спленомегалией и асцитом, осложняется плевральным выпотом и двусторонними ателектазами.

Для больных с циррозом печени характерен асцит, развивающийся в результате портальной гипертензии, уменьшенного синтеза белка и удержания натрия и жидкости вследствие относительного избытка альдостерона и вазопрессина. Проведение у них диуретической терапии нередко сопровождается гиповолемией, азотемией, иногда гипонатриемией и энцефалопатией. Очевидно, что терапия диуретиками без надлежащего контроля за объемом жидкости может уменьшить «эффективный» объем плазмы, с последующей декомпенсацией функции почек и развитием гепаторенального синдрома [2, 11].

Известно, что механизмы задержки жидкости у больных с циррозом печени включают в себя повышение секреции антидиуретического гормона, задержку натрия, а также снижение доставки

фильтрата к выводящим сегментам нефрона. При снижении «эффективного» объема возрастают изменения в симпатической нервной системе за счет стимуляции объемных рецепторов, что сопровождается увеличением активности ренина, который посредством системы ангиотензина повышает секрецию альдостерона. Как повышение тонуса симпатической нервной системы, так и увеличение альдостероновой активности приводят к задержке натрия. Задержка усугубляется перераспределением внутрипочечного кровотока вследствие повышения сосудосуживающего влияния как симпатической нервной системы, так и активации ренин-ангиотензиновой системы.

Гепаторенальный синдром обычно развивается у больных с классическими симптомами печеночного цирроза, портальной гипертензии и особенно асцита. Эти пациенты обычно имеют нормальное мочеотделение, однако моча, даже концентрированная, почти не содержит натрия, а уровни креатинина и мочевины крови прогрессивно повышаются. Патогенез гепаторенального синдрома выяснен не до конца, полагают, что почечная вазоконстрикция с последующим снижением почечного кровотока – первичный момент, ответственный за его развитие [2, 17]. По мнению некоторых исследователей, гепаторенальный синдром развивается при гиповолемии, в частности при уменьшении объема циркулирующей плазмы у больных с выраженным асцитом, а также после активной диуретической терапии, желудочно-кишечных кровотечений и выполнения лапароцентезов [17, 24].

При желтухе с высокой концентрацией циркулирующего билирубина его токсическое воздействие на канальцы почек может быть причиной развития острого канальцевого некроза, который часто осложняется артериальной гипертензией и инфекцией. Больные с циррозом печени обладают существенно ограниченной возможностью мобилизации крови из висцерального (включая печеночное) сосудистого пространства для увеличения объема циркулирующей крови [10, 13]. Таким образом, даже при кровотечении легкой степени у этих пациентов может возникать выраженная гипотензия с последующим развитием канальцевого некроза.

Другими тяжелыми клиническими проявлениями терминальной стадии хронических диффузных заболеваний печени являются выраженные отеки, нарушения метаболизма, значительная потеря веса, гипопротейнемия, гипоальбуминемия и т. д. Причины снижения концентрации альбумина связаны прежде всего с нарушением белковосинтетической функции печени, а также с общим повышением объема жидкости в организме и некоторыми другими факторами [18, 27].

При терминальной стадии цирроза печени наблюдается и поражение ЦНС, прогрессирующая токсическая энцефалопатия, приводящая к отеку мозга. Молниеносная (фульминантная) печеночная недостаточность прогрессирует от желтухи до энцефалопатии чрезвычайно быстро, иногда менее чем за одну неделю. У подобных больных в головном мозге развивается цитотоксический отек, особенно выраженный в сером веществе коры головного мозга [1, 18].

Большинство пациентов с циррозом печени имеют нарушения системы гемостаза различной степени. Коагуляционный потенциал крови снижен в связи с нарушением синтеза печеночных факторов свертывания (I, II, V, VII, IX, X), а также фибринолитических факторов. Изменения протромбинового времени обычно хорошо отражают степень дисфункции печени. Лейкоцитопения и тромбоцитопения обусловлены подавлением функции костного мозга, спленомегалией и диссеминированным внутрисосудистым свертыванием. Практически у всех пациентов наблюдается выраженная коагулопатия, возникающая как результат тромбоцитопении и снижения концентрации плазменных факторов свертывания, синтезируемых печенью. Клинически это проявляется увеличением активированного частичного тромбопластинового времени, протромбинового индекса, времени свертывания крови. На практике это обуславливает необходимость максимально прецизионного выполнения процедур пункции и катетеризации центральных вен и артерий, поскольку опасность неконтролируемого кровотечения и возникновения больших гематом при малейшей технической ошибке чрезвычайно высока [2].

Таким образом, заболевания печени в конечной стадии, когда необходима трансплантация, сопровождаются еще в предоперационный период ухудшением работы почти всех органов и систем организма. В сосудистой системе пациентов наблюдается потеря периферического тонуса сосудов с понижением кровяного давления. Нарушение функции почек вследствие развития гепаторенального синдрома сопровождается накоплением жидкости в плевральной полости и образованием легочных шунтов, формируя печеночно-легочный синдром. Недостаточная выработка функционально значимых протеинов печенью и дисбаланс в питательной системе часто обуславливают не только ухудшение свертывания крови, нарушения системы пищеварения и иммунной системы, но и способствуют развитию церебральной дисфункции, вплоть до печеночной комы [7, 13].

Послеоперационные осложнения

Принято считать, что каждый реципиент донорской печени в послеоперационном периоде демонстрирует как минимум одно осложнение, при этом

виды и этиология осложнений весьма разнообразны [9, 10,].

Все вышеописанные проблемы вначале усиливаются хирургической травмой. Так, частыми являются осложнения, связанные с кровотечениями непосредственно после операции, а в ходе дальнейшего лечения на передний план выходят проблемы, связанные с возникновением инфекций в результате подавления иммунной системы. Следует подчеркнуть, что большинство осложнений наблюдается в ранние и ближайшие сроки после ОТП.

1. Первичное нефункционирование трансплантата. Относительно редкое осложнение, которое требует ретрансплантации. Причины этого осложнения кроются в недостаточной оценке статуса донора и консервации органа; осложнениях технического и иммунологического характера у реципиента.

2. Иммунологические осложнения. Известно, что с иммунологической точки зрения печень занимает привилегированное положение, будучи относительно устойчивой к атаке иммунной системы. Тем не менее практически у всех больных отмечаются реакции отторжения разной степени тяжести. Острое (клеточное) отторжение является полностью обратимым, однако хроническое (дуктопеническое) отторжение необратимо. Оба вида отторжения могут протекать одновременно [2, 11, 19].

3. Послеоперационное кровотечение развивается у 5–10% пациентов. При этом факторами риска являются плохая функция трансплантата, почечная недостаточность, гемодиализ и массивная кровопотеря и нарушение венозного оттока [18, 22].

4. Артериальные осложнения (тромбоз, стеноз печеночной артерии, синдром обкрадывания) встречаются в 0,02–3,8% наблюдений [27] и, к сожалению, обычно ведут к потере трансплантата. Примерно третья часть тромбозов печеночной артерии происходит в первый месяц после трансплантации, две трети – после этого срока. Похожие данные авторы приводят и в отношении стеноза печеночной артерии. Причинами этого осложнения нередко являются погрешности хирургической техники: перекрут артерии, повреждение эндотелия, нарастающая коагулопатия или отек печени во время реакции острого отторжения. Предрасполагают к тромбозу такие факторы, как высокий гематокрит, артериальная гипотония, инфекция. Тромбоз печеночной артерии, возникающий в первый месяц после пересадки печени, сопровождается летальностью в 55% наблюдений, в то время как более поздние сроки тромбоза приводят к летальному исходу лишь в 15% наблюдений [23, 27]. В таких случаях ранняя диагностика осложнения и немедленная хирургическая реваскуляризация могут спасти трансплантат.

5. Тромбоз или стеноз воротной вены развивается в 0,5–1,8% [23]. Факторами риска тромбоза

являются предрасполагающий тромбоз воротной вены, ее гипоплазия, развитые портокавальные коллатерали, погрешности в хирургической технике. К ранним признакам тромбоза воротной вены относят дисфункцию трансплантата и желудочно-кишечное кровотечение. Диагноз подтверждают ультразвуковой доплерографией и аортопортোগрафией. Раннее хирургическое вмешательство для восстановления портального кровотока обычно спасает трансплантат.

6. Обструкция печеночных вен. Это осложнение, как правило, является следствием нарушения техники формирования анастомоза между печеночными венами и нижней полую веной. По данным Denys A. et al. (2004), при родственной и других видах трансплантации уменьшенной в размерах печени частота обструкции венозного оттока выше, чем при пересадке целой печени (1%), и достигает 3,6% [16]. Это осложнение может явиться причиной трудно контролируемого кровотечения с поверхности среза печени или, в последующем, клинической картиной, напоминающей синдром Бадда–Киари с асцитом и печеночной недостаточностью. Диагностируется с помощью ультразвуковой доплерографии (УЗДГ), лечение же предпочтительнее проводить эндоваскулярным способом, поскольку хирургическая коррекция значительно сложнее. Полагают, что целесообразно выполнять не баллонную дилатацию, а стентирование суженного анастомоза.

7. Осложнения со стороны желчных путей. Желчеистечение и билиарные стриктуры являются наиболее частыми осложнениями как у детей, так и у взрослых и составляют от 5 до 30%. Наибольшее число осложнений проявляется в первые три месяца после операции. Половина из них связана с зоной анастомоза и включает желчеистечение и стриктуры анастомозов [9, 10].

Фактически все ранние билиарные осложнения связаны с погрешностями хирургической техники и вызваны либо ишемическим некрозом конечного отдела желчного протока, либо неудовлетворительным качеством сформированного анастомоза. Осложнение протекает скрыто и может проявляться только лихорадкой или дисфункцией трансплантата легкой степени, а также своевременно не диагностированным прогрессирующим желчным перитонитом. При этом необходимо исключить тромбоз печеночной артерии.

Малоинвазивные методы лечения, как правило, малоэффективны при желчеистечении из анастомоза вследствие некроза анастомозированного участка желчного протока. Стриктуры анастомоза обычно возникают у 5–10% реципиентов в течение года после пересадки печени. Клиническая картина включает синдром холестаза, холангит. Возможна эндоскопическая или чрескожная чреспеченочная

баллонная дилатация с установкой билиарного стента по показаниям. Частота успешного лечения одинакова для эндоскопического и чрескожного вмешательства и составляет 70–80%. При безуспешной повторной баллонной дилатации показана реконструкция анастомоза [9, 10].

8. Синдром недостаточного размера трансплантата (small-for-size syndrome) развивается вследствие несоответствия размера трансплантата рассчитанному для реципиента объему печени донора, достаточному для обеспечения метаболических потребностей организма. По данным различных авторов, синдром может возникнуть при объеме трансплантата менее 30–35% от стандартного объема печени реципиента [18]. Синдром включает такие симптомы, как стойкая желтуха, массивный асцит, коагулопатия, почечная недостаточность. J.C. Emond et al. (1996) характеризуют синдром малого размера трансплантата синтетической дисфункцией, повышением уровня трансаминаз (в 24 раза) и длительным холестазом [18].

9. Инфекционные осложнения представлены бактериальными, вирусными и грибковыми. K. Matsuo et al. (2004) выявили бактериальную и грибковую инфекции у 28,5% больных после трансплантации печени живого донора с летальностью 5%, обусловленной аспергиллезной пневмонией [26]. Авторы считают, что риск развития инфекции тем выше, чем выше оценка статуса больного по шкале MELD и ниже по шкале UNOS. Из вирусных инфекций чаще всего осложняет течение послеоперационного периода цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция, которая имеет тропность к трансплантату, нарушает его функцию, а также приводит к развитию пневмонии [2]. M. Maekuuchi et al. (2005), анализируя 169 трансплантаций, выявили ЦМВ-инфекцию у 44% реципиентов с развитием у 3% из них клинических проявлений заболевания [24]. Авторы считают, что риск развития клинически значимой ЦМВ-инфекции невысокий, однако выявлена достоверная связь ЦМВ-инфекции с отторжением трансплантата.

В связи с высоким риском развития инфекции на фоне иммуносупрессивной терапии обязательно использование антибиотиков в течение всего периода проведения инвазивных процедур (катетеризация, дренирование).

Наиболее высока частота осложнений и летальность в первые три месяца [16]. Показано, что течение раннего послеоперационного периода, как и результат трансплантации печени, практически не зависит от тяжести исходного состояния больного перед операцией. В то же время качество трансплантата, определяющееся степенью тяжести так называемого ишемического консервационно-реперфузионного повреждения, является основным

прогностическим фактором ранней послеоперационной летальности [9].

На основании вышеизложенного можно заключить, что основными задачами интенсивной терапии в ближайший послеоперационный период ОТП являются:

- кардиореспираторная поддержка и по возможности ранняя экстубация;
- коррекция водно-электролитного баланса;
- сбалансированное парентеральное и раннее энтеральное питание;
- иммуносупрессия;
- ранняя диагностика и профилактика инфекционных осложнений [1].

Для этого необходимо осуществлять целый ряд мероприятий: мониторинг функции трансплантата, оценку клинического статуса (APACHE II и Glasgow), контроль лабораторных показателей (кислотно-щелочное состояние, биохимический, иммунный статус, показатели свертываемости) [4, 29]. Важнейшим показателем в мониторинге состояния таких пациентов является уровень иммуносупрессивного препарата в крови (значимое снижение его, так же как и повышение, может быть одним из признаков дисфункции печени) [10, 25, 28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом осложнения в посттрансплантационный период могут быть разделены на четыре группы: обусловленные состоянием пациента перед трансплантацией, качеством трансплантата, хирургическими осложнениями и осложнениями иммуносупрессивной терапии. В настоящее время в мире ведутся непрерывные поиски режимов иммуносупрессии, которые эффективно, с наименьшим побочным действием предотвращают первый острый эпизод отторжения, а также лекарственных средств, которые при последующем длительном приеме не допускают развития реакций отторжения и не создают угрозы жизни пациента за счет побочных реакций [5]. На сегодняшний день существует концепция индивидуализации режимов супрессии. Необходимость усовершенствования этой концепции обусловлена комбинацией различных факторов, влияющих на течение послеоперационного периода и исход ОТП у каждого конкретного больного. Применение более совершенных схем позволяет не допустить развития грубых изменений трансплантата и гомеостаза при отторжении и более эффективно и на ранних стадиях его подавлять [15]. Угроза развития нефротоксичности требует постоянного мониторинга параметров, отражающих функцию почек. В свою очередь для компенсации почечной недостаточности после трансплантации печени требуется разработка ме-

тодов интенсивной терапии. Мониторинг состояния больных в послеоперационном периоде должен включать регулярный контроль концентрации иммуносупрессоров в крови, гематологических и биохимических показателей, ультразвуковые и вирусологические исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вабищевич А.В., Толмачева Л.А., Кожневников В.А. и др. Анестезиологическое обеспечение трансплантации печени // Анестезиология и реаниматология. 2002. № 5. С. 42–49.
2. Готье С.В., Цирульникова О.М. Ортопическая трансплантация печени // Клиническая трансплантология; под ред. Б.А. Константинова. М.: Аир-Арт, 2004. С. 120–152.
3. Журавель С.В., Андрейцева О.И., Чугунов А.О., Чжао А.В. Особенности подготовки и обследования пациентов перед трансплантацией печени // Consilium medicum. Прил. Хирургия. 2007. № 2. С. 68–72.
4. Локишин Л.С., Лантий А.В., Готье С.В., Кожневников В.А. Перфузиологическое обеспечение трансплантации печени // Анестезиология и реаниматология. 2000. № 5. С. 65–67.
5. Минина М.Г., Гуляев В.А., Губарев К.К., Ахметшин Р.Б. Влияние некоторых донорских факторов на функцию трансплантированной печени // Актуальные вопросы трансплантации органов: Материалы городской науч.-практ. конф. Тверь: Триада, 2008. С. 29–32.
6. Павлов Н.С., Андрейцева О.И., Муссетус С.Г., Чжао А.В., Ивашкин В.Т. Частота и факторы риска развития отторжения печени после трансплантации // РЖГГК. 2003. № 1. С. 26–35.
7. Тарабарко Н.В., Сторожев Р.В., Шмарина Н.В. и др. Особенности течения раннего послеоперационного периода у больных после аллотрансплантации почки на фоне применения современной схемы иммуносупрессии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2002. № 3. С. 66.
8. Хубутия М.Ш. Состояние и перспективы трансплантации органов в г. Москве // Актуальные вопросы трансплантации органов: Материалы городской науч.-практ. конф. Тверь: Триада, 2008. С. 3–15.
9. Цирульникова О.М. Печень в ранние сроки после ее обширных резекций и трансплантации: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М., 2004. 37 с.
10. Чжао А.В., Джагарев К.Р., Чугунов А.О., Олисов О.Д. Билиарные осложнения после ортопической трансплантации печени // Актуальные вопросы трансплантации органов: Материалы городской науч.-практ. конф. Тверь: Триада, 2008. С. 70–71.
11. Шумаков В.И. Трансплантология: Руководство. Тула: Медицина, 1995. С. 275–280.
12. Bourgeois N., Boon N. Biliary strictures after liver transplantation // J. Hepatol. 2002. V. 36 (Supp. 1). P. 35.
13. Broering D.C., Wilms C., Bok P. et al. Evolution of donor morbidity in living related liver transplantation: a single-center analysis of 165 cases // Ann. Surg. 2004. V. 240. № 6. P. 1013–1024.
14. Demetris A., Adams D., Bellamy C. et al. Update of the international Banff Schema for Liver Allograft Rejection: An. International Panel: working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection // Hepatology. 2000. V. 31. № 3. P. 792–799.
15. Demirci G., Becker T., Nyibata M., Lueck R. et al. Result of combined and sequential liver-kidney transplantation // Liver Transplantation. 2003. V. 9. № 10. P. 1067–1078.
16. Denys A., Chevallier P., Doenz F. et al. Interventional radiology in the management of complications after liver transplantation // Eur. Radiol. 2004. V. 14. P. 431–439.
17. De Rave S., Hansen B.E., Groenland T. et al. Heterotopic vs. orthotopic liver transplantation for chronic liver disease: a case control comparison for short term and long term outcomes // Liver Transpl. 2005. V. 11. № 4. P. 396–401.
18. Emond J.C., Renz J.F., Ferrell L.D. et al. Functional analysis of grafts from living donors. Implications for the treatment of older recipients // Ann. Surg. 1996. V. 224. № 4. P. 544–552.
19. Gomez-Manero N., Herrero J.I., Quiroga J. et al. Early acute rejection after liver transplantation: multivariate analysis of risk factors // J. Hepatol; Postgraduated course and Abstracts of the 35th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. 2000. Rotterdam (The Netherlands): C 01/10.
20. Gomez-Manero N., Herrero J.I., Quiroga J. et al. Impact of early acute rejection on outcome after liver transplantation // J. Hepatol; Postgraduated course and Abstracts of the 35th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. 2000. Rotterdam (The Netherlands): C 01/09.
21. Gonwa T.A., Mai M.L., Melton L.B. et al. End-stage renal disease (ESRD) after orthotopic liver transplantation (OLT) using calcineurin-based immunotherapy: risk of development and treatment // Transplantation. 2001. V. 72. № 12. P. 1934–1939.
22. Lo C.M. Complications and long-term outcome of living liver donors: a survey of 1,508 cases in five Asian centers // Transplantation. 2003. V. 15. № 75. P. 12–15.
23. Lo C.M., Fan S.T., Liu C.L. et al. Lessons learned from one hundred right lobe living donor liver transplants // Ann. Surg. 2004. V. 240. № 1. P. 151–158.
24. Makuuchi M., Sugawara Y. Technical progress in living donor liver transplantation for adults // H.P.B: the official of the International Hepato Pancreato Biliary Association. 2004. V. 6. № 2. P. 95–98.
25. Masri M.A., Barbari A., Stephan A. et al. Measurement of lymphocyte cyclosporine levels in transplant patients // Transplant. Proc. 1998. V. 30. P. 3561–3562.
26. Matsuo K., Sekido H., Morioka D. et al. Surveillance of perioperative infections after adult living donor liver transplantation // Transplant. Proc. 2004. V. 36. № 8. P. 2299–2301.
27. Uchiyama H., Hashimoto K., Hiroshige S. et al. Hepatic artery reconstruction in living-donor liver transplantation: a review of its techniques and complications // Surgery. 2002. V. 131. Suppl. 1. P. 200–204.

28. *Van Hoek B., Wiesner R., Krom R. et al.* Severe ductopenic rejection following liver transplantation: incidence, time of onset, risk factors, treatment and outcome // *Sem. Liv. Dis.* 1992. Vol. 12. № 1. P. 41–50.
29. *Wiesner R.H., Goldstein R., Donovan J.P. et al.* The impact of cyclosporine dose and level on acute rejection and patient and graft survival in liver transplant recipients // *Liv. Transplant. Surg.* 1998. V. 4. № 1. P. 34–41.

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Подписку на журнал «Вестник трансплантологии и искусственных органов» можно оформить в ближайшем к вам почтовом отделении.

Подписной индекс нашего издания в каталоге «Газеты и журналы» – 80248,



Ф. СП-1		ВЕСТНИК ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ		80248 (индекс издания)	КОЛИЧЕСТВО КОМПЛЕКТОВ						
на 2009 год по месяцам											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
		(почтовый индекс)				(адрес)					
Кому											
		(фамилия, инициалы)									
Ф. СП-1		ДОСТАВочная КАРТОЧКА			на журнал	80248 (индекс издания)					
		пв	место	ли-тер							
ВЕСТНИК		ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ									
стои-мость	подписки	руб.	коп.	КОЛИЧЕСТВО	КОМПЛЕКТОВ						
	пере-адресовки	руб.	коп.								
на 2009 год по месяцам											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
		(почтовый индекс)				(адрес)					
Кому											
		(фамилия, инициалы)									

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ПУПОВИННОЙ КРОВИ КАК СПОСОБ КОРРЕКЦИИ АУТОИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА

Великий Д.А.¹, Закирьянов А.Р.¹, Поздняков О.М.², Онищенко Н.А.¹

¹ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

²ФГУ «НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН», Москва

В обзоре представлена современная концепция развития аутоиммунного сахарного диабета. Рассмотрена возможность коррекции иммунных нарушений и регенерации β -клеток путем трансплантации клеток костного мозга и пуповинной крови.

Ключевые слова: аутоиммунный сахарный диабет, клетки костного мозга, регенерация

TRANSPLANTATION OF BONE MARROW CELLS AND UMBILICAL CORD BLOOD CELLS AS A WAY FOR CORRECTION OF AUTOIMMUNE MECHANISMS IN DEVELOPMENT OF DIABETES MELLITUS TYPE I

Velikiy D.A.¹, Zakirianov A.R.¹, Pozdnyakov O.M.², Onischenko N.A.¹

¹Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

²Research Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, Moscow

In this review the modern conception of development of autoimmune diabetes mellitus was presented. Possibilities of immune disturbances correction and β -cells regeneration at transplantation of bone marrow and umbilical cord blood cells were considered.

Key words: autoimmune diabetes mellitus, bone marrow cells, regeneration

Сахарный диабет (СД) I типа – это хроническое аутоиммунное заболевание, морфологическим субстратом которого является воспаление островков Лангерганса (ОЛ), приводящее к деструкции β -клеток и абсолютному дефициту инсулина, а также к развитию гипергликемии и тяжелым сосудистым осложнениям в организме [5, 6, 47].

СД и его тяжелые сосудистые осложнения по-прежнему остаются одной из ведущих причин ранней инвалидизации и гибели людей во всех странах мира. По прогнозам экспертов, распространенность СД в ближайшие годы будет только увеличиваться: так, если в 2000 г. в мире насчитывалось

около 170 млн больных сахарным диабетом, то к 2030 г. их количество возрастет до 366 млн, причем 10–15% из них будет приходиться на больных СД I типа [46]. В Российской Федерации на апрель 2000 г., по регистрационным данным, насчитывалось более 2 млн больных, из которых около 300 000 страдают СД I типа [5].

Полагают, что предпосылкой для развития СД I типа является генетическая предрасположенность. На сегодняшний день на генетической карте хромосомы выявлено 24 локуса, связанных с развитием СД I типа [22]. У лиц европейской расы, больных инсулинозависимым СД, чаще встречаются аллели

Статья поступила в редакцию 2.02.09 г.

Контакты: Онищенко Нина Андреевна, д. м. н., профессор, зав. лабораторией биотехнологии стволовых клеток ФГУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ. Тел. (499) 190-45-31, e-mail: illak@mail.ru

HLA-DR3 и -DR4, причем особенно часто заболевают гетерозиготы HLA-DR3/DR4. Генотип HLA-DR3/DR4 обнаруживается у 40% больных инсулинозависимым СД. Однако исследование частоты развития заболевания у однояйцевых близнецов показало, что их коэффициент конкордантности составляет только 40% [5].

Известно также, что с HLA-генотипом связано нарушение селекции Т-клеток в тимусе, которое является важным патогенетическим фактором развития аутоиммунных заболеваний, в том числе СД I типа [3]. Полагают, что гены предрасположенности к СД I типа могут кодировать молекулы HLA класса II, имеющие слишком низкое сродство к антигенам β-клеток. В таких условиях к этим антигенам не формируется иммунная толерантность, поскольку они не представляются Т-клеткам в тимусе [37]. В результате нарушения отрицательной селекции в тимусе в организме появляются клоны Т-клеток, способные взаимодействовать с собственными антигенами и разрушать клетки и ткани, в которых они содержатся.

К триггерным факторам развития СД I типа относят: вирусные инфекции, химические агенты, несбалансированное питание и психоэмоциональный стресс [5], которые провоцируют развитие аутоиммунного процесса в островковой ткани поджелудочной железы (ПЖ).

Иммунная дисрегуляция как фактор возникновения и прогрессирования гибели островковых клеток при СД I типа

СД I типа характеризуется нарушением клеточно-опосредованного иммунитета в ПЖ, что выражается лимфоидной инфильтрацией ОЛ и последующей деструкцией β-клеток. Наряду с лимфоцитами в иммунное повреждение ПЖ вовлечены также макрофаги и дендритные клетки [49]. β-клеточные аутоантигены распознаются дендритными клетками и макрофагами, а затем презентуются Т-хелперным клеткам ($CD4^+$ Th₁) в комплексе с молекулами МНС II класса. Местная активация $CD4^+$ Th₁-клеток вызывает нарушение баланса между Т-эффекторными и Т-регуляторными клетками. Это приводит к смещению соотношения Th₁/Th₂-клеток в сторону Th₁ и к преобладающей продукции провоспалительных Th₁-цитокинов, что, как полагают, является важным фактором развития инсулита и сосудистых осложнений. Цитокины, секретируемые $CD4^+$ Th₁-клетками (IL-2, IFN-γ, TNF-α и TNF-β), могут активировать прецитотоксические $CD8^+$ Т-клетки, в результате чего происходит их дифференцировка в $CD8^+$ цитотоксические эффекторные

Т-клетки, вызывающие гибель островковых клеток (ОК) [31].

Помимо участия в активации цитотоксических Т-клеток макрофаги способны непосредственно повреждать β-клетки ОЛ через продукцию свободных радикалов кислорода (NO, H₂O₂) и цитокинов (IL-1β, TNF-α и IFN-γ), так как β-клетки ПЖ имеют повышенную чувствительность к свободным радикалам. Известно также, что макрофаги являются нормальными компонентами эмбриональной, неонатальной и взрослой ПЖ у людей и грызунов и способны секретировать различные факторы, вовлеченные в развитие ОЛ и ремоделирование этой ткани. Поэтому функциональные расстройства этих клеток, особенно дефекты в фагоцитозе и в представлении антигена в иммунном ответе, могут создать локальные нарушения микроокружения, неогенеза ОК и способствовать развитию аутоиммунной реакции [20].

Эффекторные $CD8^+$ Т-клетки, в свою очередь, оказывают цитотоксическое воздействие на β-клетки ОЛ через прямой контакт с поверхностными лигандами апоптоз-индуцирующих рецепторов, таких как FasL и мембраносвязанный TNF-α или через секрецию молекул перфорина, которые облегчают проход протеазных гранзимов внутрь клетки. Гранзимы же активируют нуклеазы в клетках и разрушают их. Кроме того, провоспалительные цитокины, секретируемые Т-клетками и макрофагами, также индуцируют экспрессию Fas-рецепторов на β-клетках ОЛ и запускают процесс апоптоза [49]. Результатом активации этих иммунологических процессов становится инсулит – лимфоидная инфильтрация островковых клеток ПЖ.

Особого внимания заслуживает тот факт, что клеточная инфильтрация имеет место только в тех ОЛ, в которых содержатся β-клетки. Такая строгая адресность иммунной реакции на компоненты β-клеток подтверждает специфичность их повреждения в клеточной аутоиммунной реакции [6].

В настоящее время имеются прямые доказательства центральной роли Т-лимфоцитов в β-клеточной деструкции. Так, показана возможность переноса диабета введением очищенных активированных Т-клеток от больных аутоиммунным СД NOD-мышей сингенным недиабетическим животным. Введение активированных Т-лимфоцитов вызывало у последних развитие СД I типа [49].

В развитии СД I типа важную роль играет не только Т-клеточное, но и гуморальное звено иммунитета. В крови больных обнаруживаются аутоантитела к поверхностным антигенам островковых клеток (AISA), к цитоплазматическим антигенам островковых клеток (AICA), к ядерным антигенам островковых клеток (AINA) и к собс-

твенному инсулину (AIA), среди них особое значение имеют антитела к глутаматдекарбоксилазе (GADAs) и к тирозинфосфатазе-2 (IA-2As). Полагают, что аутоантитела против этих β -клеточных аутоантигенов не играют решающей роли в патогенезе заболевания. Однако, появляясь задолго до клинических проявлений СД, антитела становятся первым признаком вялотекущего аутоиммунного процесса и позволяют проводить раннюю диагностику СД I типа [47]. По мере прогрессирования заболевания и уменьшения специфического субстрата (β -клеток) частота выявления антител к антигенам ОК уменьшается.

В условиях сохраняющейся дисрегуляции гуморального и клеточного иммунитета в ткани ПЖ при СД I типа возникают и поддерживаются нарушения информационных межклеточных взаимодействий, а также наступает угнетение не только регенерации и пролиферации инсулин-продуцирующих клеток, но также пролиферации и дифференцировки прогениторных/стволовых клеток ПЖ [7]. В результате в организме прогрессируют явления апоптоза β -клеток, гипергликемия и другие клинические проявления СД I типа.

В настоящее время имеются все основания признать, что иммунная дисрегуляция при СД I типа отражает прежде всего нарушение баланса процессов деструкции и восстановительной регенерации в ОЛ и сосудистой стенке, так как известно, что одной из важных функций иммунной системы является регуляция процессов морфогенеза в организме [2]. В свете вышеизложенного становится очевидным, что для восстановления структуры и функции островковой ткани ПЖ при СД I типа необходимо прежде всего восстанавливать регуляцию аутоиммунитета. Даже несмотря на возможность активации процессов пролиферации и регенерации β -клеток в ПЖ больных СД I типа, повышенный апоптоз, сохраняющийся при иммунной дисрегуляции, будет способствовать гибели новообразованных β -клеток без увеличения β -клеточной массы [44].

Использование клеток костного мозга и пуповинной крови для индукции иммунной толерантности при СД I типа и других аутоиммунных заболеваниях

В последнее время трансплантацию клеток костного мозга (ККМ) гемопоэтической или стромальной фракции, содержащей стволовые (прогениторные) клетки, стали использовать при различных аутоиммунных заболеваниях, в том числе при СД I типа, для коррекции иммунного дисбаланса и активизации восстановительных процессов в

поврежденных органах. Полагают, что коррекция иммунного дисбаланса и формирование иммунной толерантности при использовании этих клеток достигаются за счет продукции ими регуляторных пептидов (преимущественно противовоспалительных цитокинов и ростовых факторов), которые восстанавливают регуляторную функцию органов иммуногенеза, в том числе тимуса и селезенки, обеспечивая реализацию в более полном объеме функций тимуса в организме и участие Т-клеток в процессах репаративного морфогенеза поврежденных тканей [1].

Использование клеток гемопоэтического ряда

Известно, что в индукции иммунной толерантности к аутоиммунным заболеваниям, опухолевому процессу или аллогенному трансплантату важную роль играют так называемые Т-регулирующие клетки (Treg) [32, 35, 45]. Они представляют собой субпопуляцию $CD4^+$ Т-клеток, которые экспрессируют альфа-цепь рецептора к IL-2 (CD25) и белок Foxp3 (фактор транскрипции). На экспериментальных моделях было показано, что истощение $CD4^+CD25^+$ Treg-клеток усиливает хронические воспалительные заболевания, тогда как их адоптивный перенос предотвращает развитие широкого спектра экспериментальных аутоиммунных заболеваний [16]. Известно, что при СД I типа существует дисбаланс между диабетогенными эффекторами ($CD8^+$) и иммунорегуляторными ($CD4^+CD25^+$) Т-клеточными субпопуляциями. Недавние исследования показали, что при трансплантации аутологичной гемопоэтической фракции ККМ достоверно увеличивается количество функционально активных $CD4^+CD25^+$ Treg-клеток, в результате чего в организме может происходить восстановление иммунорегуляторных механизмов [17]. Помимо этого, введенные Treg-клетки имеют прямое воздействие на увеличение количества и/или дифференцировки новых Treg-клеток через активацию цитокинов или ко-стимулирующих молекул [39].

В последнее время большое внимание уделяется способности $CD4^+CD25^+$ Treg-клеток ингибировать аутоиммунные заболевания в экспериментальных моделях на животных, а также их роли в патологии у человека. Treg-клетки, как полагают, являются долгоживущей субпопуляцией и составляют приблизительно 2–10% от периферических $CD4^+$ Т-клеток как у грызунов, так и у человека [32]. В настоящее время они рассматриваются как важная часть механизмов обеспечения периферической толерантности [35]. Данные о том, что мутации Foxp3 являются причиной

лимфоаденопатии и фатального мультиорганного аутоиммунного повреждения, подтверждают важную роль Трег-клеток в регуляции аутоиммунитета [41]. В модельных опытах на животных было показано, что от Трег-клеток зависит течение различных аутоиммунных заболеваний [16], в том числе СД I типа [29]. Установлено, что у больных с аутоиммунными заболеваниями, в частности у больных с СД I типа, происходит снижение как количества, так и функциональной активности Трег-клеток [27]. Интересными являются данные о том, что Трег-клетки присутствуют не только в лимфоидных органах (тимус, лимфатические узлы, селезенка) и периферической крови, но и в воспаленных (поврежденных) тканях: так, при СД I типа они обнаруживаются в ОЛ поджелудочной железы [30]. Механизмы, через которые $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Т-клетки оказывают иммуносупрессивное действие на эффекторные Т-клетки, до конца не изучены. Однако полагают, что супрессорное действие на иммунные реакции с развитием иммунной толерантности происходит: за счет преимущественного расходования Трег-клетками IL-2, который играет ключевую роль в дифференцировке и пролиферации $CD8^+$ цитотоксических клеток; за счет индукции апоптоза Т-эффекторных $CD8^+$ клеток через активацию $CD30/CD30L$ взаимодействия или через активацию перфорина и гранзима В; за счет продукции этими клетками противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β [41].

Положительные результаты применения нативной фракции гемопоэтических ККМ были показаны при лечении животных с экспериментальными моделями аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит, энцефаломиелит) [16], в том числе при моделировании СД I типа [29]. Трансплантация аутологичной фракции гемопоэтических ККМ применялась и в клинике для лечения больных с тяжелыми аутоиммунными заболеваниями [42]. Выполняемая с целью коррекции иммунной системы, такая терапия оказывала позитивный эффект, в том числе у больных СД I типа. Так, по данным Voltarelli J.C. et al., 14 из 15 пациентов, участвующих в экспериментальном исследовании, смогли на разные сроки отказаться от регулярных инъекций инсулина, что свидетельствует об устранении блока восстановительной регенерации β -клеток ПЖ [43].

Имеются также позитивные сведения об использовании клеток пуповинной крови для лечения животных при моделировании СД I типа [24]. В настоящее время проводится расширенное клиническое исследование эффективности применения клеток аутологичной пуповинной крови при лечении больных СД I типа [18].

Использование мультипотентных мезенхимальных стромальных (стволовых/прогениторных) клеток

На сегодняшний день имеются многочисленные данные о том, что и мультипотентные мезенхимальные стромальные (стволовые/прогениторные) клетки костного мозга (ММСК КМ) обладают иммуномодулирующими свойствами [9, 40]. Механизм их иммунорегуляторного действия связывают как с прямым воздействием через межклеточные контакты на иммунорегуляторные клетки, так и с воздействием на эти клетки факторов, секретируемых ММСК КМ. Секретируемые ММСК КМ биоактивные регуляторные пептиды – цитокины, ростовые факторы – определяют биорегуляторные свойства этих клеток *in vitro* и *in vivo*. За счет синтеза противовоспалительных и лимфоциторегулирующих факторов ММСК КМ обладают способностью подавлять активацию Th_1 -клеток. ММСК КМ способны также изменять цитокиновый профиль в организме, ингибируя синтез провоспалительных цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-12) и стимулируя образование противовоспалительных цитокинов (TGF- β , IL-4, IL-10) [10]. Помимо воздействия на Т-клетки, ММСК КМ могут также ингибировать некоторые функции В-клеток [15], НК-клеток [38] и дендритных клеток (ДК) [50]. В частности, было показано, что ММСК КМ способны ингибировать активацию и пролиферацию В-клеток, а также секрецию IgG; помимо этого, ММСК КМ оказывают ингибирующий эффект на экспрессию CD40L на В-клетках [15]. При использовании способа сокультивации *in vitro* ММСК КМ и дендритных клеток было показано, что фракция человеческих ММСК КМ ингибирует положительную регуляцию нескольких маркеров созревания на ДК, что приводит к снижению их способности активировать алло-реактивные Т-клетки [50]. Помимо этого, недавно было показано, что ММСК КМ могут стимулировать пролиферацию $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Т-регулирующих клеток. Так, при сокультивации ММСК КМ и мононуклеарных клеток периферической крови показано увеличение процента $CD4^+CD25^+$ Трег-клеток в культуре [36]. Возможно, это было связано с тем, что ММСК КМ секретируют трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), который играет важную роль в дифференцировке/генерации Трег-клеток [48].

Хотя точные механизмы иммунорегуляторного действия аутологичных и аллогенных ММСК КМ до конца не известны, большинство исследований показывают, что они осуществляются с помощью растворимых факторов. К этим факторам относят: TGF- $\beta 1$, фактор роста гепатоци-

тов (HGF), простагландин E2 (PGE2) и индоламин 2,3-диоксигеназу (IDO) [10, 38]. ММСК КМ также экспрессируют высокий уровень фактора стромальных клеток-1 (SDF-1) [14], который играет важную роль в активации CXCR4-экспрессирующих эндокринных клеток-предшественников и необходим для роста и дифференцировки ОК поджелудочной железы [23]. Помимо этого, SDF-1 стимулирует гемопоэтические прогениторные клетки и способен повышать их количество в ПЖ. Другим важным свойством ММСК КМ является способность этих клеток мигрировать к участкам повреждения тканей [26]. Показана даже возможность слияния (fusion) ММСК КМ с клетками разных фенотипов *in vivo* [11], в результате чего, возможно, происходит передача морфогенетической информации, стимулирующей геном и пролиферативную активность. ММСК КМ могут также обеспечивать цитокинами и факторами роста поддержку пролиферации гемопоэтических стволовых клеток.

Эффективность влияния ММСК КМ на процессы репаративной регенерации поврежденных органов и тканей была показана при введении животным с моделями различных заболеваний: сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата, неврологическими нарушениями, повреждениями легких, печени, почек, а также в клинической практике для восстановления функции сердца [34], для регенерации костной ткани [12] и для ингибирования реакции «трансплантат против хозяина» [33]. Показана положительная терапевтическая роль ММСК КМ и на экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний, в частности при введении ММСК КМ животным с моделью СД I типа, у которых было отмечено уменьшение уровня глюкозы и повышение уровня инсулина в крови [14, 26], то есть установлено ингибирование иммунной дисрегуляции и индукция процессов регенерации в островковой ткани ПЖ.

Продемонстрированное нами влияние костного мозга как центрального органа иммуногенеза на процессы морфогенеза в организме укладывается в концепцию влияния иммунорегуляторных клеток иммунной системы на процессы репаративной регенерации. По современным представлениям, иммунная система в здоровом организме находится в состоянии толерантности к разнообразным антигенам собственных органов, и это состояние поддерживается определенным уровнем избытка циркулирующих органых антигенов. При существенном уменьшении определенного антигена (при резекции или повреждении органа), который обеспечивал эту естественную толерантность, начинается размножение специфических к нему лимфоидных клеток – CD4⁺ Т-хелперов.

Именно этим клеткам принадлежит ведущая роль в индукции морфогенеза органов. Синтезированные CD4⁺ Т-хелперы при этом приходят в контакт с антигенспецифичными клетками резецированного органа, активируют их геном и пролиферативную активность. В результате ускоренного клеточного деления вновь возрастает продукция специфического антигена и происходит восстановление иммунологической толерантности в организме, следствием чего является торможение размножения Т-хелперов [2]. Однако в условиях хронического стресса во всех органах иммунной системы (костный мозг, тимус, селезенка) наступают глубокие морфофункциональные изменения, которые характеризуются развитием вторичного иммунодефицитного состояния с ослаблением клеточного и гуморального иммунитета, цитокиновым дисбалансом, перераспределением иммунных клеток в организме и нарушением их информационной и миграционной активности. Дисбаланс в системе иммунной регуляции ведет к нарушению морфорегуляторных функций лимфоидной ткани, следствием чего является нарушение процессов регенерации [2]. Недавно было показано, что под влиянием ММСК КМ происходит стимуляция Т-зон тимуса, а также Т- и В-зон селезенки, восстановление структуры и функции их компартментов. Отражением этого является нормализация цитокинового баланса и активизация процессов репаративной регенерации паренхиматозных тканей [1].

Использование нефракционированной культуры клеток костного мозга

Полагают, что введенные клетки костного мозга способны стимулировать синтез эндогенного фактора роста гепатоцитов (HGF), индуцируя тем самым регенерацию β-клеток в ОЛ ПЖ. Так, было показано, что после трансплантации ККМ крысам с STZ-моделью СД I типа отмечено более чем 8-кратное увеличение содержания HGF в сыворотке крови животных по сравнению с группой контроля. В более ранних исследованиях показано, что в периоде эмбриогенеза мезенхимальные клетки опосредованно за счет синтеза HGF стимулируют дифференцировку c-met⁺-эпителиальных клеток протоков в инсулин-продуцирующие клетки [21].

Другим важным свойством ККМ является стимуляция неоангиогенеза – как за счет прогениторных клеток, способных дифференцироваться в эндотелиоциты, так и за счет выделяемых ими регуляторных факторов [19]. Особенно большое значение это свойство ККМ имеет для больных СД I типа, у которых вследствие многочисленных метаболических нарушений и окислительного

стресса резко снижено количество предшественников эндотелиальных клеток, что приводит к развитию различных сосудистых осложнений (микроангиопатий), а также является фактором торможения регенерации ОЛ [28]. Известно, что в период эмбриогенеза важную роль в развитии и формировании ПЖ играют эндотелиальные сигналы, поэтому стимуляция неоангиогенеза имеет большое значение не только при лечении вторичных сосудистых осложнений, но и для активации регенерации ОК ПЖ [25].

Вместе с тем важно подчеркнуть, что в условиях хронической патологии аутологичные ККМ не могут адекватно участвовать в процессах восстановительной регенерации (воспринимать и направлять сигналы на регенерацию), так как при хроническом стрессе нарушаются процессы хоуминга и продукции тканеспецифических факторов адоптивного роста. Так, показано, что ККМ, полученные от животных с моделью СД I типа, угнетены и находятся в состоянии супрессии за счет снижения их популяционной и миграционной активности [4]. Поэтому важную роль в терапии аутологичными клетками костного мозга должен играть процесс их предварительной прекультурации с целью восстановления биорегуляторной активности ККМ [8].

Эффективность проводимой терапии ККМ также напрямую связана с кратностью введения клеток. В экспериментах на животных с моделью СД I типа было показано, что более существенное и длительное снижение уровня глюкозы наблюдается у животных с многократным введением ККМ по сравнению с животными, которым трансплантация производилась однократно [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сахарный диабет I типа является тяжелым прогрессирующим аутоиммунным заболеванием, в основе которого лежит глубокая дисрегуляция иммунной системы, но главным образом ее Т-клеточного звена. В результате нарушения баланса между процессами деструкции и восстановительной регенерации, развивающегося в условиях иммунной дисрегуляции в ПЖ, происходит снижение пула β -клеток, а аутоиммунная агрессия при этом ведет к нарушению межклеточных взаимодействий, снижению информационной, индукционной и пролиферативной активности прогениторных/стволовых клеток ПЖ, а также стволовых ККМ, что усугубляет процессы деструкции. Есть все основания полагать, что даже несмотря на возможность активации процессов пролиферации и регенерации β -клеток в ПЖ больных СД I типа, повышенный апоптоз при сохраняющейся иммун-

ной дисрегуляции будет способствовать гибели новообразованных β -клеток, без увеличения β -клеточной массы. Поэтому необходимым условием для восстановления и поддержания функции ОК ПЖ при установленном СД I типа является реверсия аутоиммунитета. Трансплантация культивированных клеток аутологичного костного мозга позволяет предполагать возможность восстановления нарушенного гомеостаза, устранения дисрегуляции иммунной системы, а также ингибирования аутоиммунного процесса и увеличения массы островковой ткани за счет растормаживания пролиферативной активности прогениторных/стволовых клеток ПЖ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аскаргов М.Б., Онищенко Н.А., Макарова О.В. Восстановление морфофункционального состояния органов иммуногенеза и течение длительно незаживающих аутоиммунных язв желудка при трансплантации культивированных клеток аутогенного костного мозга // Клеточная трансплант. и тканевая инженерия. 2008. V. 3. P. 36–42.
2. Бабаева А.Г. Роль иммунной системы в дисрегуляции морфогенетических процессов // Дисрегуляторная патология; под ред. Г.Н. Крыжановского. М.: Медицина, 2002. С. 366–385.
3. Галактионов В.Г. Эволюционная иммунология. М.: Академкнига, 2005. 408 с.
4. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. и др. Состояние пулов стволовых клеток при экспериментальном сахарном диабете // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2006. V. 3. P. 123–127.
5. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М., Чазова Т.Е. Сахарный диабет: патогенез, классификация, диагностика и лечение. М., 2003. 171 с.
6. Делягин В.М., Волков И.Э., Румянцев А.Г., Скуркович С.В. Иммунные и неиммунные нарушения при сахарном диабете типа 1 у детей // Вопросы гематологии / онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2004. V. 3 (2). P. 76–80.
7. Закирьянов А.Р., Онищенко Н.А., Клименко Е.Д., Поздняков О.М. Регенерационная клеточная терапия сахарного диабета I типа и его осложнений // Вестник РАМН. 2008. V. 3. P. 42–51.
8. Темнов А.А. Клеточная трансплантация при лечении хронической сердечной недостаточности: Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008.
9. Abdi R., Fiorina P., Adra C.N., Atkinson M., Sayegh M.H. Immunomodulation by mesenchymal stem cells: a potential therapeutic strategy for type 1 diabetes // Diabetes. 2008. V. 57. P1759–1767.
10. Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses // Blood. 2005. V. 105. P. 1815–1822.
11. Alvarez-Dolado M. Cell fusion: biological perspectives and potential for regenerative medicine // Front Biosci. 2007. V. 12. P. 1–12.

12. Arthur A., Zannettino A., Gronthos S. The therapeutic applications of multipotential mesenchymal/stromal stem cells in skeletal tissue repair // *J Cell Physiol.* 2009. V. 218 (2). P. 237–245.
13. Banerjee M., Kumar A., Bhonde R.R. Reversal of experimental diabetes by multiple bone marrow transplantation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 328 (1). P. 318–325.
14. Boumaza I., Srinivasan S., Witt W.T., Feghali-Bostwick C., Dai Y., Garcia-Ocana A., Feili-Hariri M. Autologous bone marrow-derived rat mesenchymal stem cells promote PDX-1 and insulin expression in the islets, alter T-cell cytokine pattern and preserve regulatory T-cells in the periphery and induce sustained normoglycemia // *J Autoimmun.* 2008 Dec 3. [Epub ahead of print].
15. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood.* 2006. V. 107. P. 367–372.
16. Dazzi F., van Laar J.M., Cope1 A., Tyndall A. Cell therapy for autoimmune diseases. *Arthritis Research & Therapy.* 2007. V. 9. P. 206.
17. de Kleer I., Vastert B., Klein M., Teklenburg G. et al. Autologous stem cell transplantation for autoimmunity induces immunologic self-tolerance by reprogramming autoreactive T-cells and restoring the CD4+CD25+ immune regulatory network // *Blood.* 2006. V. 107. P. 1696–1702.
18. Haller M.J., Viener H., Wasserfall C. et al. Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes // *Experimental Hematology.* 2008. V. 36. P. 710–715.
19. Hess D., Li L., Martin M. et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat. Biotechnol.* 2003. V. 21 (7). P. 763–770.
20. Homo-Delarche F., Drexhage H.A. Immune cells, pancreas development, regeneration and type 1 diabetes. *Trends Immunol.* 2004. V. 25 (5). P. 222–229.
21. Izumida Y., Aoki T., Yasuda D. et al. Hepatocyte growth factor is constitutively produced by donor-derived bone marrow cells and promotes regeneration of pancreatic beta-cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 333 (1). P. 273–282.
22. Jahromi M.M., Eisenbarth G.S. Genetic determinants of type 1 diabetes across populations // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006. V. 1079. P. 289–299.
23. Kayali A.G., Van Gunt K., Campbell I., Stotland A., Kritzik M., Liu G. et al. The stromal cell-derived factor-1 α /CXCR4 ligand-receptor axis is critical for progenitor survival and migration in the pancreas // *J Cell Biol.* 2003. V. 163. P. 859–869.
24. Koblas T., Harman S.M., Saudek F. The application of umbilical cord blood cells in the treatment of diabetes mellitus // *Rev Diabet Stud.* 2005. V. 2. P. 228–234.
25. Lammert E., Cleaver O., Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels // *Science.* 2001. V. 294 (5542). P. 564–567.
26. Lee R.H., Seo M.J., Reger R.L. et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103 (46). P. 17438–17443.
27. Lindley S., Dayan C.M., Bishop A., Roep B.O., Peakman M., Tree T.I. Defective suppressor function in CD4+CD25+ T-cells from patients with type 1 diabetes // *Diabetes.* 2005. V. 54. P. 92–99.
28. Loomans C.J., de Koning E.J., Staal F.J. et al. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes // *Diabetes.* 2004. V. 53 (1). P. 195–199.
29. Lundsgaard D., Holm T.L., Hornum L., Markholst H. *In vivo* control of diabetogenic T-cells by regulatory CD4+CD25+ T-cells expressing Foxp3 // *Diabetes.* 2005. V. 54. P. 1040–1047.
30. Peng Y., Laouar Y., Li M.O., Green E.A., Flavell R.A. TGF- β regulates *in vivo* expansion of Foxp3-expressing CD4+ CD25+ regulatory T-cells responsible for protection against diabetes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. P. 4572–4577.
31. Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W.L. Role of cytokines in the pathogenesis of autoimmune diabetes mellitus // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2003. V. 4 (3). P. 291–299.
32. Randolph D.A., Fathman C.G. CD4+CD25+ regulatory T-cells and their therapeutic potential // *Annu Rev Med.* 2006. V. 57. P. 381–402.
33. Ringden O., Uzunel M., Rasmusson I. et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation.* 2006. V. 81. P. 1390–1397.
34. Rosenzweig A. Cardiac cell therapy – mixed results from mixed cells // *Engl J Med.* 2006. V. 355. P. 1274–1277.
35. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T-cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses // *Annu Rev Immunol.* 2004. V. 22. P. 531–562.
36. Selmani Z., Naji A., Zidi I., Favier B., Gaiffe E. et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T-lymphocyte and natural killer function and to induce CD4+CD25^{high} Foxp3⁺ regulatory T-cells // *Stem Cells.* 2008. V. 26. P. 212–222.
37. Sia C., Homo-Delarche F. Tolerance Induction and Endogenous Regeneration of Pancreatic β -cells in Established Autoimmune Diabetes. *Rev. Diabetic Stud.* 2004. V. 1. P. 198–206.
38. Sotiropoulou P.A., Perez S.A., Gritzapis A.D., Baxevas C.N., Papamichail M. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells // *Stem Cells.* 2006. V. 24. P. 74–85.
39. Tarbell K.V., Petit L., Zuo X., Toy P. et al. Dendritic cell-expanded, islet-specific CD4+ CD25+ CD62L+ regulatory T-cells restore normoglycemia in diabetic NOD mice // *J. Exp. Med.* 2007. V. 204 (1). P. 191–201.
40. Uccelli A., Pistoia V., Moretta L. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? // *Trends Immunol.* 2007. V. 28. P. 219–226.
41. van der Vliet H.J., Nieuwenhuis E.E. IPEX as a result of mutations in Foxp3 // *Clin Dev Immunol.* 2007. P. 89017.
42. Vanikar A.V., Modi P.R., Patel R.D. et al. Hematopoietic stem cell transplantation in autoimmune diseases:

- the Ahmedabad experience // *Transplant. Proc.* 2007. V. 39 (3). P. 703–708.
43. *Voltarelli J.C., Couri C.E., Stracieri A.B. et al.* Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus // *JAMA*. 2007. V. 297. P. 1568–1576.
44. *von Herrath M., Homann D.* Islet regeneration needed for overcoming autoimmune destruction – considerations on the pathogenesis of type 1 diabetes // *Pediatr Diabetes*. 2004. V. 5 (Suppl. 2). P. 23–28.
45. *Waldmann H., Chen T.C., Graca L., Adams E. et al.* Regulatory T-cells in transplantation // *Semin Immunol*. 2006. V. 18. P. 111–119.
46. *Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H.* Global prevalence of diabetes // *Diabetes Care*. 2004. V. 27. P. 1047–1053.
47. *Winter W.E., Harris N., Schatz D.* Immunological markers in the diagnosis and prediction of autoimmune type 1a diabetes // *Clinical Diabetes*. 2002. V. 20. P. 183–191.
48. *Yamazaki S., Bonito A.J., Spisek R., Dhodapkar M.V. et al.* Dendritic cells are specialized accessory cells along with TGF- β for the differentiation of Foxp3⁺ CD4⁺ regulatory T cells from peripheral Foxp3-precursors // *Blood*. 2007. V. 110. P. 4293–4302.
49. *Yoon J.W., Jun H.S.* Autoimmune destruction of pancreatic beta cells // *Am. J. of Therapeutics*. 2005. V. 12 (6). P. 580–591.
50. *Zhang W., Ge W., Li C., You S., Liao L. et al.* Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells // *Stem Cells Dev*. 2004. V. 13. P. 263–271.



ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ!

16 марта 2009 г. исполнилось 70 лет Эдуарду Николаевичу Казакову, доктору медицинских наук, профессору, заведующему отделением коронарной хирургии и трансплантации сердца Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова Министерства здравоохранения и социального развития РФ.

Эдуард Николаевич Казаков является одним из основоположников и создателей кардиохирургической и кардиотрансплантологической школы в России, одним из пионеров освоения коронарной хирургии в СССР.

Эдуард Николаевич родился в 1939 г. В 1960 г. окончил 2-й МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова и с 1961 г. работал в ИССХ им. А.Н. Бакулева. С 1967 г. активно занимался проблемой трансплантации сердца в эксперименте и защитил кандидатскую диссертацию по теме «Гетеротопическая трансплантация сердца». С 1971 г. Эдуард Николаевич руководил клинической группой в ИССХ им. А.Н. Бакулева, начавшей освоение и клиническое внедрение операций аортокоронарного шунтирования в СССР. С 1973 г. руководил лабораторией трансплантации сердца ИССХ им. А.Н. Бакулева. За время работы лаборатории под его руководством было защищено 8 кандидатских диссертаций, посвященных различным аспектам экспериментальной кардиотрансплантологии. В 1979 г. Э.Н. Казаков защитил докторскую диссертацию «Аортокоронарное шунтирование у больных с множественным поражением коронарных артерий». В последующие годы Эдуард Николаевич продолжал научную и клиническую деятельность, посвященную разработке самых различных аспектов коронарной хирургии.

В 1985 г. Эдуард Николаевич по предложению директора НИИТиЮ МЗ СССР В.И. Шумакова перешел на работу в наш институт и в 1987 г. возглавил впервые созданное в СССР клиническое отделение коронарной хирургии и трансплантации сердца. С именем Э.Н. Казакова связано становление и развитие коронарной хирургии в стенах НИИТиЮ МЗ СССР. Под руководством академика В.И. Шумакова профессором Э.Н. Казаковым совместно с сотрудниками лаборатории была проведена титаническая работа по клиническому внедрению трансплантации сердца в СССР, вырос высокопрофессиональный коллектив врачей и научных сотрудников, вот уже более 20 лет успешно решающий различные клинические и научные вопросы кардиотрансплантологии.

По результатам работы отделения были подготовлены и защищены множество кандидатских и докторских диссертаций по различным аспектам клинической трансплантации сердца. В 1988 г. Э.Н. Казакову присвоено звание профессора. В составе коллектива под руководством академика В.И. Шумакова Эдуард Николаевич был удостоен Премии Правительства России за вклад в развитие отечественной трансплантологии. Он является автором более 300 научных работ в области сердечно-сосудистой хирургии и трансплантологии, в том числе соавтором многих руководств и монографий. В 1999 г. Э.Н. Казакову присвоено звание «Отличник здравоохранения РФ».

Эдуард Николаевич, обладая прекрасными человеческими качествами, сплотил вокруг себя коллектив, ставший единой семьей, с большой готовностью делится своим огромным клиническим и научным опытом с коллегами и по праву заслуживает гордого звания Учителя.

Коллектив института сердечно поздравляет Эдуарда Николаевича с юбилеем и от всей души желает ему крепкого здоровья и творческих успехов!

ФГУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА»

ОТДЕЛЕНИЕ ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ И МЕДИЦИНСКИХ КАДРОВ

Лицензия А № 283208

Регистрационный № 9529 от 26.11.2007

Россия, 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, тел./факс (499) 196 87 97

ФГУ «ФНЦТиО имени академика В.И. Шумакова Минздравсоцразвития РФ» – одно из ведущих научно-исследовательских медицинских учреждений России – успешно развивает хирургическую науку, разрабатывает современные высокие лечебные и диагностические технологии, новейшие направления в трансплантологии, хирургии сердца, функциональной диагностике, иммунологии, применении искусственных органов и вспомогательного кровообращения в клинике, готовит врачебные и научные кадры.

На базе института проводится стажировка и повышение квалификации (очное обучение – от 0,5 до 3,5 месяца) по направлениям деятельности института: трансплантация почки, трансплантация печени, трансплантация сердца, трансплантация поджелудочной железы, хирургия сердца, электрокардиостимуляция, перфузиология, реанимация и интенсивная терапия, гемодиализ, клеточные технологии, рентгенохирургия, функциональная диагностика, экспресс-диагностика, клиническая лабораторная диагностика, трансплантационная иммунология, донорство и консервация органов, реабилитация, диспансеризация больных после пересадки органов и др.

Обучение проводится по следующим темам:

1. Клиническая трансплантация почки.
2. Клиническая трансплантация печени.
3. Клиническая трансплантация сердца.
4. Клиническая трансплантация поджелудочной железы.
5. Общие хирургические проблемы трансплантологии и сердечно-сосудистой хирургии.
6. Клеточные технологии в клинической трансплантологии.
7. Донорство в клинической трансплантологии.
8. Анестезиология и реанимационное пособие при трансплантации органов.
9. Диализ в нефрологии.
10. Трансплантационная иммунология и мониторинг.
11. Клиническая лабораторная диагностика в трансплантологии.
12. Хирургическое лечение нарушения ритма сердца.

13. Трансплантация стволовых клеток.
14. Искусственное и вспомогательное кровообращение.
15. Кардиохирургическая реанимация и интенсивная терапия.
16. Сестринское операционное дело.
17. Методика внутриаортальной баллонной контрапульсации.
18. Методические основы и интерпретация результатов иммуноферментного анализа.
19. Родственная трансплантация почки.
20. Методы радионуклидной диагностики в кардиологии в сочетании с функциональными пробами.
21. Клиническое применение мультиспиральной томографии.
22. Магнитно-резонансная томография в клинической практике.

Продолжительность циклов – 72 и 144 часа.

После окончания циклов выдается свидетельство о повышении квалификации.

В заявке указываются:

- Ф. И. О. врача,
- место работы,
- должность,
- адрес учреждения,
- продолжительность и сроки обучения,
- гарантия оплаты обучения,
- требуется ли гостиница.

Курсантов обеспечивают гостиницей, оплата за счет проживающих.

Питание в столовой института.

Заявки на обучение принимаются по адресу: 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, отделение подготовки научных и медицинских кадров, Багдасарян Анна Рафаэловна.

Тел./факс (499) 196 87 97

E-mail: transplant2009@mail.ru

После получения заявки будут отправлены путевка с указанием даты прибытия специалиста для прохождения курса повышения квалификации, стоимости обучения и договор.



Пациентке необходимо 1000 мг железа

CosmoFer®
ВОСПОЛНИТ
дефицит железа
одной инфузией!

Реклама

CosmoFer® краткая инструкция по применению. Перед применением **CosmoFer®** (низкомолекулярный декстран железа) пожалуйста ознакомьтесь с одобренной локализованной инструкцией. **Описание:** Раствор для инфузий и инъекций в ампулах 2 мл, содержащий комплекс железа (III)-гидроксида декстрана 312,5мг, эквивалентный 50мг железа (III) в мл. **Показания:** железодефицитная анемия при невозможности либо неэффективности перорального применения железа у пациентов старше 14 лет. **Дозировка:** Обычно рекомендуется введение 100-200мг, что соответствует 2-4мл, два либо три раза в неделю в зависимости от уровня гемоглобина. Если клиническая ситуация требует быстрого возмещения железа, может быть инфузирвана общая доза **CosmoFer®** до 20мг железа/кг массы тела. **Способ введения:** Раствор **CosmoFer®** для инъекций может быть введен внутривенной капельной инфузией либо медленной внутримышечной инъекцией. **Внутримышечная инъекция:** для внутримышечной инъекции дозу **CosmoFer®** следует вычислить либо определить по таблице доз. Полученную общую дозу следует ввести серией инъекций неразведенного препарата до 100мг железа (2,0мл). **CosmoFer®** следует вводить глубоко внутримышечно избегая подкожного введения, рекомендуется использовать технику Z-образного сдвига кожи. **ПЕРЕД ВВЕДЕНИЕМ ПЕРВОЙ ДОЗЫ НОВОМУ ПАЦИЕНТУ:** рекомендуется введение тестовой дозы 25мг, что соответствует 0,5мл раствора **CosmoFer®**. При отсутствии реакций в течение 60минут вводится оставшаяся доза. **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ:** анемия не связанная с железодефицитом, передозировка железа либо нарушения метаболизма железа, пациенты страдающие астмой, экземой либо другими проявлениями атопии, лекарственной аллергией, декомпенсированным циррозом печени и гепатитами, острыми либо хроническими инфекционными заболеваниями, ревматоидным артритом с симптомами острого воспаления, острой почечной недостаточностью. Беременность и лактация: **CosmoFer®** не должен применяться во время первого триместра беременности, однако, может быть использован во время второго, третьего триместров и при лактации, если пероральное применение препаратов железа невозможно либо неэффективно. Терапия пероральными препаратами железа должна быть начата не менее чем через 5 дней после последнего введения **CosmoFer®**. Упаковка: 5 ампул в коробке.

Данные пациентки:

- Железодефицитная анемия
- Масса тела 70 кг
- Гемоглобин 80 г/л
- Целевой гемоглобин 110 г/л

КосмоФарм®
121087 Москва, ул.Баркляя д.6 стр.26
Адрес для корреспонденции:
119048 Москва а/я 134
телефон: +7(495)6440031
факс: +7(495)6440032
e-mail: office@cosmopharm.ru
www.cosmopharm.ru www.cosmofer.ru



Эффективный и универсальный...

CosmoFer® парентерально значительно повышает ответ на терапию эритропоэтином по сравнению с пероральной терапией железом^{1,2}

CosmoFer® - единственный всемирно доступный препарат железа, который может применяться как внутривенно, так и внутримышечно в соответствии с суммарной дозой^{1,3,4}

CosmoFer® при инфузии общей дозы, улучшает переносимость, снижает необходимое количество инъекций и нахождение в стационаре⁵

С хорошо документированной безопасностью применения
Клинический опыт > 60 миллионов доз⁶

CosmoFer® характеризуется существенно менее выраженными побочными явлениями по сравнению с высокомолекулярными препаратами декстрана железа^{7,8,9,10,11,12}

CosmoFer® является жестко связанным комплексом железа, более стабильным чем сахарозный комплекс железа и глюконат железа, и следовательно менее вероятно приводящим к токсичности^{13,14,15,16,17}

1) Auerbach M. J Clin Oncol 2004, 22 No 7: 1301-1307. 2) Fishbane S. AJKD 1995, Vol 26, No 1: pp 41-46. 3) Summary of product characteristics. 4) Auerbach M et al, AJKD 1998; 31, 1; 81-86. 5) Peebles G. and Stanley Stewart, Journal of Outcomes Research 2004; 8:15-25. 6) IMS data and data on file. 7) Peck, SN et al, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition: Volume 27 (4) October 1998 p 487. 8) Case G. ANNA Journal; Feb. 1998; 25,1 pp 65-68. 9) McCarthy et al, Am J Nephrol 2000;20:455-462 10) Fletes R. et al, American Journal of Kidney Diseases, Vol 37, No 4 (April), 2001: pp 743-749. 11) Coyne D.W. et al, Kidney International (2003) Vol. 63, pp. 217-224. 12) Chertow GM et al, Nephrol Dial Transplant 2004; 19: 1571-1575. 13) Geisser P et al, Structure/Histotoxicity relationship of parenteral iron preparations. Arzneimittelforschung/Drug Research (1992). 42 (II), 12, 1439-1452. 14) Zager RA et al, AJKD 2002, 40, (1): 90-103. 15) Zager RA et al, Kidney International 2004, 66: 144-156. 16) Agarwal R, Kidney International, Vol. 65 (2004), pp. 2279-2289. 17) Horl W.H., Macdougall I.C, Rossert J., Schaefer R.M.: "Therapy with intravenous iron and recombinant human erythropoietin in chronic kidney disease". OPTA update 2005.

CosmoFer®
low Mw iron dextran

КосмоФер®
низкомолекулярный декстран
железа

ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ



Высокая эффективность при трансплантации почки, печени, сердца

- Снижение частоты отторжения трансплантата

Безопасность при длительном применении

- Увеличение выживаемости трансплантата
- Увеличение выживаемости пациентов после трансплантации
- Возможность использования низких доз ингибиторов кальциневрина и кортикостероидов (вплоть до отмены)
- Нефропротективный эффект
- Кардиопротективный эффект

Реклама



ЗАО «Рош-Москва»
Официальный дистрибьютор
«Ф. Хоффманн - Ля Рош Лтд.»
(Швейцария)
Россия, 107031, Москва,
Трубная площадь, дом 2
Бизнес-центр «Неглинная Плаза»
Тел. + 7 (495) 229-29-99
Факс + 7 (495) 229-79-99
www.roche.ru

СеллСепт[®]
микофенолата мофетил

Свадьба

Дети

Тяжелая болезнь

Трансплантация и Програф

Свадьба детей

Внуки

Каждая линия поведения свою историю

Многолетний опыт применения Прографа показал, что препарат улучшает почечную функцию, снижает частоту хронического отторжения и увеличивает выживаемость трансплантатов.¹⁻⁶

Результаты исследований препарата с сопутствующими иммунодепрессантами подчеркивают центральную роль Прографа в иммуносупрессивной терапии после пересадки почки, печени и сердца. Более того, Програф создает условия для быстрого уменьшения дозы и отмены стероидных гормонов.⁷⁻⁹

Успех в трансплантологии, основанный на применении Прографа, откроет новые перспективы в жизни каждого больного.



Програф[®]

Для успешного лечения
на долгие годы

Ссылки: 1. M.R. Lacey. A comparison of tacrolimus and cyclosporine in liver transplantation: effects on renal function and cardiovascular risk status. *American Journal of Transplantation* 4(8): 937-943 (2004) 2. M.A. Jurwek. Tacrolimus versus cyclosporine immunosuppression: long-term outcome in renal transplantation. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 18(Suppl. 1): 7-11 (2003) 3. B.K. Krieger et al. Cardiovascular risk factors and estimated risk for CAD in a randomized trial comparing calcineurin inhibitors in renal transplantation. *American Journal of Transplantation* 3(8): 982-987 (2003) 4. F. Vincenti et al. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation* 73(5): 778-782 (2002) 5. A.D. Meyer et al. Chronic rejection and graft half life: five-year follow-up of the European tacrolimus vs cyclosporine renal study. *Transplantation Proceedings* 34(5): 1481-1482 (2002) 7. Y. Uprentinghem et al. Minimization of immunosuppressive therapy after renal transplantation: results of a randomized controlled trial. *American Journal of Transplantation* 2(1): 87-95 (2002) 8. O. Bollor et al. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus following induction with daclizumab: a large randomized clinical study. *Liver Transplantation* 7(1): 81-87 (2003) 9. L. Rosling et al. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, cyclosporine and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation* 79(7): 807-814 (2005)