

ISSN 1995-1191

# ВЕСТНИК

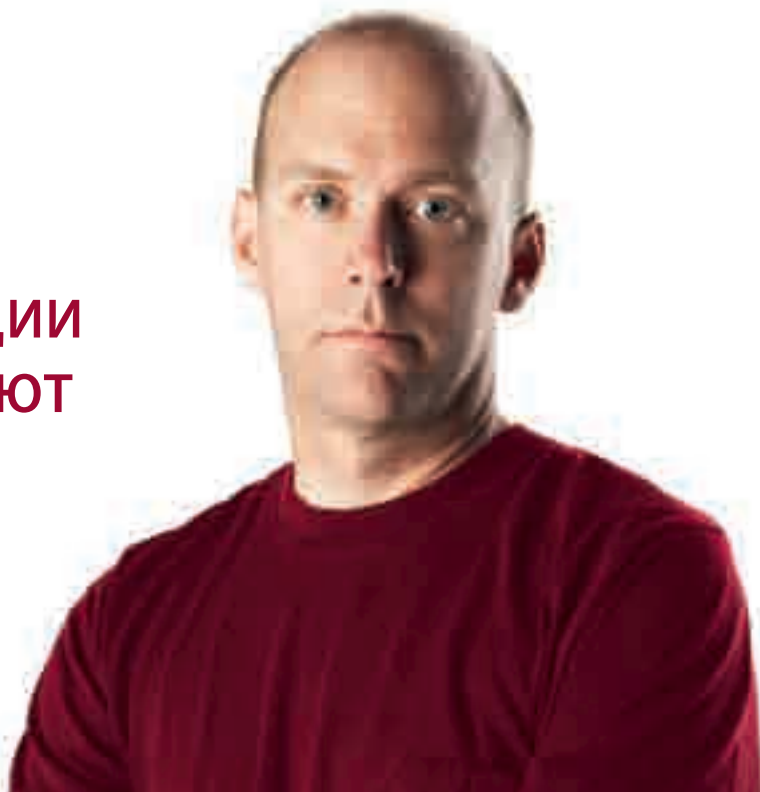
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ  
ОРГАНОВ



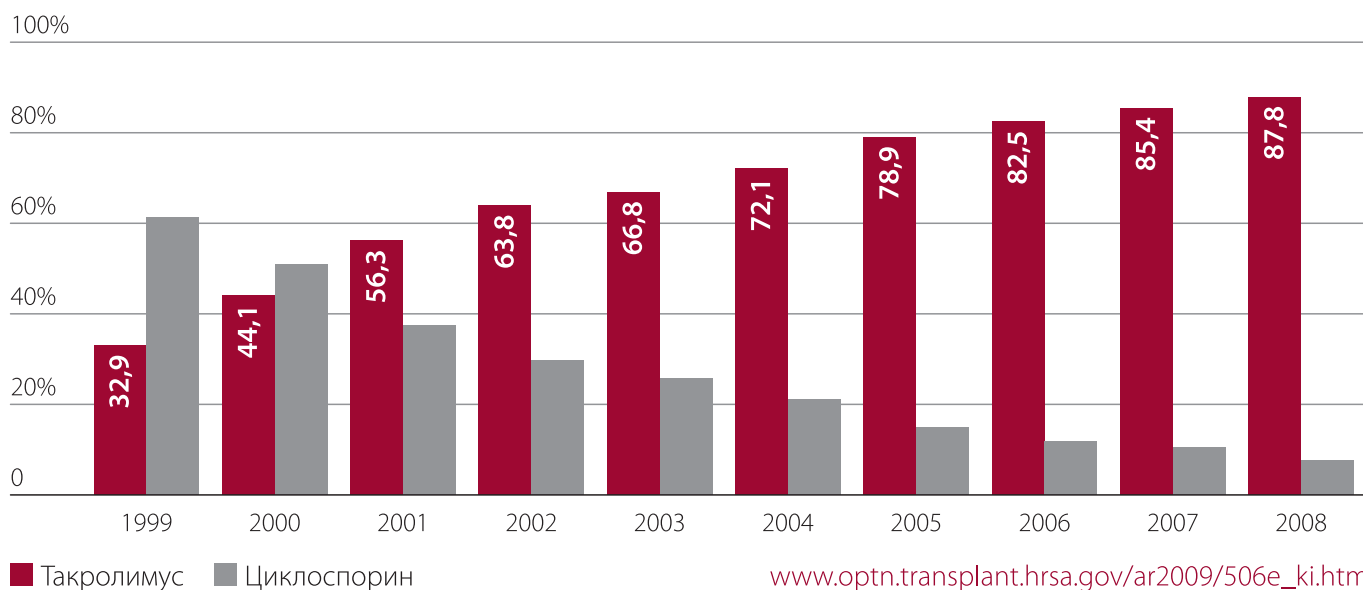
ТОМ XIV

№1–2012

# 9 ИЗ 10 ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ В США ПОЛУЧАЮТ ПРОГРАФ С ЦЕЛЬЮ ПРОФИЛАКТИКИ ОТТОРЖЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАТА



Динамика назначения такролимуса и циклоспорина при выписке из стационара после трансплантации почки в США (SRTR)



Имеются противопоказания и побочные эффекты, перед назначением Прографа для получения полной информации необходимо ознакомиться с утвержденной инструкцией по медицинскому применению препарата.

Регистрационное удостоверение:  
ЛС-000923 от 28.05.2009 г.,  
ЛС-000922 от 21.07.2009 г.

 **ПРОГРАФ®**  
такролимус, капсулы

 **astellas** | **TRANSPLANT**

Представительство «Астеллас Фарма Юроп Б. В.» Россия, 109147, Москва, ул. Марксистская, 16. Тел. (495) 737-07-55

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ  
ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ  
«РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

# 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 XIV № 1–2012

### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Главный редактор – академик РАМН С.В. Готье**

В.Ю. Абрамов  
Э.М. Балакирев  
Д.А. Гранов  
В.В. Горбунов  
И.М. Ильинский  
Г.П. Иткин  
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. Цирульников  
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)  
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.И. Перельман (Москва)  
Л.М. Рошаль (Москва)  
Г.Т. Сухих (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 +7 (499) 193 87 62

E-mail: [vestniktranspl@gmail.com](mailto:vestniktranspl@gmail.com)

Научно-электронная библиотека (НЭБ): <http://elibrary.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 одном экземпляре.
- 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 приставным 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 ГОСТ 7.1-84 приставную 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, ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова»,  
«Вестник трансплантологии и искусственных органов»  
E-mail: vestniktranspl@gmail.com

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 11.03.12.

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 филиале ОАО «ТОТ» Ржевская типография.  
г. Ржев, ул. Урицкого, д. 91. Заказ

# СОДЕРЖАНИЕ

## СТРАНИЦА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

### ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ

Опыт 100 трансплантаций трупной печени в одном центре

*Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Корнилов М.Н., Цирульникова О.М., Ярошенко Е.Б., Милосердов И.А., Погребниченко И.В., Бельских Л.В.*

Трансплантация почек, полученных у доноров после остановки сердца

*Розенталь Р.Л., Юшинский Я.Л., Трушков С.В., Бицанс Я.Б., Шевелев В.Н., Мальцев А.В.*

Клинические аспекты и биохимические маркеры формирования костной ткани после пересадки печени

*Бузулина В.П., Пронченко И.А., Ермакова И.П., Корнилов М.Н., Ярошенко Е.Б., Мнацаканян Д.С., Кoliaшвили Т.К., Шмерко Н.П.*

Практическое использование экстракорпоральной мембранной оксигенации в донорстве органов для трансплантации

*Минина М.Г., Хубутия М.Ш., Губарев К.К., Гуляев В.А., Пинчук А.В., Каабак М.М., Дабасамбаева Б.В.*

Сравнительная оценка результатов трансплантации печени больным с циррозом вирусной этиологии и аутоиммунными заболеваниями печени. Данные одного центра

*Герасимова О.А., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К.*

Комплексная оценка состояния печени после выполнения лапаротомии у мультиорганного донора

*Хубутия М.Ш., Гуляев В.А., Зимица Л.Н., Новрузбеков М.С., Минина М.Г.*

Инсулиноподобный фактор роста-1 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы

*Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Бугров А.В., Лурье Ю.Э., Цирульникова И.Е., Мнацаканян Д.С., Гичкун О.Е., Готье С.В.*

Трансплантация печени в Краснодаре: первый опыт

*Попов А.Ю., Лищенко А.Н., Давыденко М.Н., Завражнов А.А., Порханов В.А.*

### ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ

Биоимпедансный анализ в практике программного гемодиализа: краткий обзор литературы и собственный опыт диализного центра

*Строков А.Г., Поз Я.Л., Гаврилин В.А., Копылова Ю.В., Крышин К.Н., Кутузова А.В., Терехов В.А.*

# CONTENTS

## 5 EDITORIAL

### ORGAN TRANSPLANTATION

6 One hundred deceased donor liver transplantations at a single center

*Gautier S.V., Moysyuk Y.G., Poptsov V.N., Kornilov M.N., Tsirulnikova O.M., Yaroshenko E.B., Miloserdov I.A., Pogrebniuchenko I.V., Belskikh L.V.*

15 Kidney transplantation from donors after cardiac death

*Rozental R.L., Ushinskis Y.L., Trushkov S.V., Bitsans Y.B., Shevelev V.N., Malcev A.V.*

19 Clinical aspects and biochemical markers of bone formation after liver transplantation

*Buzulina V.P., Pronchenko I.A., Yermakova I.P., Kornilov M.N., Yaroshenko E.B., Mnatsakanyan D.S., Koliashvili T.K., Shmerko N.P.*

27 Practical use of extracorporeal membrane oxygenation in organ donation for transplantation

*Minina M.G., Khubutia M.Sh., Gubarev K.K., Gulyaev V.A., Pinchuk A.V., Kaabak M.M., Dabasambueva B.V.*

36 Comparative results of liver transplantation in patients with viral cirrhosis and autoimmune liver diseases at a single center

*Gerasimova O.A., Granov D.A., Zherebtsov F.K.*

41 Comprehensive assessment of the liver after laparotomy in donor multiorgan

*Hubutia M.S., Gulyaev V.A., Zimina L.N., Novrusbekov M.S., Minina M.G.*

50 Insulin-like growth factor-1 after orthotopic liver transplantation in children with congenital and hereditary diseases of hepatobiliary system

*Shevchenko O.P., Tsirulnikova O.M., Bougrov A.V., Lourie Y.E., Tsirulnikova I.E., Mnatsakanyan D.S., Gichkun O.E., Gautier S.V.*

55 Liver transplantation in Krasnodar: first results

*Popov A.Y., Lischenko A.N., Davydenko M.N., Zavrazhnov A.A., Porhanov V.A.*

### ARTIFICIAL ORGANS

59 Bioimpedance analysis in haemodialysis practice: short review and single center experience

*Strokov A.G., Poz Y.L., Gavrilin V.A., Kopylova J.V., Kryshin K.N., Kutuzova A.V., Terехov V.A.*

**РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА И КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ**

Влияние природы антикоагулянта на результаты исследований гемосовместимых свойств медицинских материалов в условиях *in vitro*  
*Немец Е.А., Севастьянов В.И., Уваров С.П., Романов О.В.*

Особенности адгезии и пролиферации фибробластов мыши линии NIH/3T3 на пленках из бактериального сополимера поли(3-гидроксibuтират-СО-3-гидроксивалерата) с различной шероховатостью поверхности  
*Сургученко В.А., Пonomарева А.С., Ефимов А.Е., Немец Е.А., Агапов И.И., Севастьянов В.И.*

Применение гомологичных клеточных пептидов для улучшения морфофункционального состояния эндотелия донорских роговиц при хранении в нормотермическом и гипотермическом режимах  
*Борзенко С.А., Роллик О.И., Онищенко Н.А., Комах Ю.А., Делекторская В.В.*

**ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ**

Технические аспекты сосудистой реконструкции при трансплантации левого латерального сектора печени взрослого донора в педиатрической практике  
*Готье С.В., Ахаладзе Д.Г.*

Современный взгляд на морфологию острого отторжения аллотрансплантированной печени  
*Шкалова Л.В., Ильинский И.М., Цирульникова О.М.*  
Возможности использования бактериофагов в хирургии и трансплантологии  
*Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Цирульникова О.М.*

**ОТЧЕТЫ О МЕЖДУНАРОДНЫХ КОНФЕРЕНЦИЯХ**

Обзор материалов Банфф-конференции 2011 года  
*Траилин А.В., Никоненко Т.Н., Никоненко А.С.*

**ЮБИЛЕИ**

Поздравляем Ольгу Павловну Шевченко  
Поздравляем Владимира Александровича Вишневецкого  
Поздравляем Юрия Петровича Островского  
Поздравляем Эдуарда Абдулхаевича Галлямова

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

**REGENERATIVE MEDICINE AND CELL TECHNOLOGIES**

66 Specific aspects of interaction of platelets with the heparinized materials  
*Nemets E.A., Sevastianov V.I., Uvarov S.P., Romanov O.V.*

72 Characteristics of adhesion and proliferation of mouse NIH/3T3 fibroblasts on the poly(3-hydroxybutyrate-CO-3-hydroxyvalerate) films with different surface roughness values  
*Surguchenko V.A., Ponomareva A.S., Efimov A.E., Nemets E.A., Agapov I.I., Sevastianov V.I.*

78 The use of homologous cellular peptides during medium-term corneal organ culture and corneal cold storage  
*Borzenok S.A., Rolik O.I., Onischenko N.A., Komakh Y.A., Delektorskaya V.V.*

**LITERATURE REVIEWS**

86 Technical aspects of vaskular reconstruction in pediatric left lateral segment transplantation  
*Gautier S.V., Akhaladze D.G.*

95 Current view on morphology of acute rejection in liver transplantation  
*Shkalova L.V., Iljinsky I.M., Tsurulnikova O.M.*

106 Possibilities of bacteriophages application in surgery and transplantation  
*Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Tsurulnikova O.M.*

**INTERNATIONAL CONFERENCE REPORT**

114 BANFF-2011 conference report  
*Trailin A.V., Nikonenko T.N., Nikonenko A.S.*

**ANNIVERSARY**

124 Olga Pavlovna Shevchenko  
125 Vladimir Alexandrovich Vichnevsky  
126 Yury Petrovich Ostrovsky  
127 Eduard Abdulkhaevich Gallyamov

128 Information of scientific and training facility at Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantation and Artificial Organs

## *Глубокоуважаемые коллеги!*

Одним из наиболее значимых событий научной жизни в 2012 году станет VI Всероссийский съезд трансплантологов, проведение которого намечено на 24–27 сентября 2012 года.

Пять предшествующих съездов – это уже история, и уместно вспомнить их хронологию. I Всероссийский съезд по трансплантологии и искусственным органам состоялся 8–10 сентября 1998 года по инициативе академика В.И. Шумакова. Невозможно переоценить значение этого события при становлении трансплантологии как самостоятельного направления отечественной медицинской науки и практики: это и первый опыт масштабного системного анализа научных достижений, и объединение отечественных ученых и практиков в профессиональное сообщество, и возможность живого общения и обмена опытом. II и III всероссийские съезды по трансплантологии и искусственным органам состоялись соответственно в 2002 и 2005 годах.

IV съезд впервые проходил в отсутствие лидера отечественной трансплантологии, основателя традиции проведения всероссийских трансплантологических съездов. Он открылся 9 ноября 2008 года – в день, когда В.И. Шумакову должно было исполниться 77 лет, и был посвящен памяти этого великого человека.

Что нового принесли последние форумы? В первую очередь – возможность представить современное состояние и новейшие достижения в области науки и практики. Кроме того – анализ организационных и правовых аспектов донорства и реализации трансплантологической помощи населению нашей страны. Безусловно, интересным и полезным является опыт проведения первых совместных заседаний Европейского общества трансплантации органов (ESOT) и Российского трансплантологического общества (V съезд – 2010 год). В рамках V съезда были организованы первые Шумаковские чтения, посвященные сердечно-сосудистой хирургии и трансплантации сердца, которые впоследствии составили самостоятельную традицию.

Учитывая комплексность и широту нашей специальности, очень важно, что в мероприятиях принимают участие ведущие российские и зарубежные ученые – специалисты в области клинической и экспериментальной трансплантологии, реаниматологи и неврологи, врачи больниц скорой помощи, а также руководители здравоохранения, главные внештатные специалисты – трансплантологи регионов, представители профессиональных медицинских обществ и ассоциаций. Отрадно отметить, что съезды трансплантологов – знаковые для российской медицины события – широко освещаются в средствах массовой информации.

Приглашаю всех коллег и заинтересованных лиц к участию в VI Всероссийском съезде трансплантологов и уверен, что вместе мы сумеем сделать это событие полезным и незабываемым.

*С уважением  
главный редактор журнала,  
директор ФГБУ «Федеральный научный центр  
трансплантологии  
и искусственных органов  
им. академика В.И. Шумакова»  
Минздравоохранения России,  
академик РАМН*



*С.В. Готье*

## ОПЫТ 100 ТРАНСПЛАНТАЦИЙ ТРУПНОЙ ПЕЧЕНИ В ОДНОМ ЦЕНТРЕ

*Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Корнилов М.Н., Цирульникова О.М.,  
Ярошенко Е.Б., Милосердов И.А., Погребниченко И.В., Бельских Л.В.*

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»  
Минздравсоцразвития России, г. Москва

В работе обобщен опыт 100 трансплантаций трупной печени, выполненных с декабря 2004-го по июнь 2011 года. Представлен спектр показаний к операции, в том числе к ретрансплантации печени, современные технические варианты выполнения операции, структура послеоперационных осложнений, включая сосудистые и билиарные. Показано, что выживаемость реципиентов с циррозом печени HCV-этиологии и гепатоцеллюлярной карциномой существенно ниже, чем при других показаниях. Суммарный показатель выживаемости через 1, 3 и 5 лет после трансплантации печени составил 89; 87; 87% соответственно. Выживаемость трансплантата в течение 1, 3 и 5 лет составила 85; 82; 70% соответственно. Обсуждаются вопросы длительной поддерживающей иммуносупрессии и лечения HCV-инфекции после трансплантации.

*Ключевые слова:* трансплантация печени, выживаемость реципиентов, иммуносупрессия, вирусные гепатиты.

## ONE HUNDRED DECEASED DONOR LIVER TRANSPLANTATIONS AT A SINGLE CENTER

*Gautier S.V., Moysyuk Y.G., Poptsov V.N., Kornilov M.N., Tsirulnikova O.M.,  
Yaroshenko E.B., Miloserdov I.A., Pogrebnichenko I.V., Belskikh L.V.*

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

There's a report of 100 cadaveric liver transplantation performed from December 2004 to June 2011. Indication for liver transplantation, including retransplantation, technical features of surgery, postoperative complications have been described. Patient survival was significantly lower in HCV-positive and HCC recipient than in other indications. Cumulative recipient survival rate at 1, 3, 5 years is 89; 87; 87%. Cumulative graft survival rate at 1, 3, 5 years is 85; 82; 70%. Long term immunosuppression and HCV-infection after transplantation are discussed.

*Key words:* liver transplantation, patient survival, immunosuppression, viral hepatitis.

### ВВЕДЕНИЕ

С тех пор как в 1963 году Т. Starzl [30] выполнил первую ортотопическую трансплантацию печени (ОТП), мировым трансплантационным сообществом был пройден путь от единичных клинических попыток до широкого распространения и признания ОТП как метода лечения острых и хронических заболеваний печени, злокачественных опухолей и болезней нарушения обмена веществ [1, 15, 17, 25]. За это время спектр показаний вырос от единичных до десятков нозологических форм. В насто-

ящее время сохраняется тенденция к расширению этого перечня за счет ограничения противопоказаний и включения в него новых заболеваний, которые до недавнего времени лечились исключительно терапевтическими методами, в большинстве случаев неэффективно.

К настоящему времени в мире выполнено более 400 тысяч трансплантаций печени, а ежегодно выполняется более 20 000 новых операций. В России активное развитие трансплантологических программ началось лишь в последнее десятилетие [3,

*Статья поступила в редакцию 13.01.12 г.*

*Контакты:* Мойсюк Ян Геннадьевич, д. м. н., профессор, зав. отделением клинической трансплантологии.

*Тел. 8 963 644 96 31, e-mail: moysyuktrans@list.ru*



4, 6, 10, 13]. В 2010 году трансплантация печени выполнялась в 11 центрах, всего было выполнено 209 операций (из них 41,5% от живого родственного донора в 3 центрах), количество операций на 1 млн населения достигло 1,5 [3].

Данная статья обобщает опыт 100 ОТП, которые были выполнены последовательно с декабря 2004-го по июнь 2011 года в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова МЗ и СР РФ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с декабря 2004-го по июнь 2011 года в клинике центра выполнено 100 ортотопических трансплантаций трупной печени 94 больным в возрасте от 11 до 71 года. Средний возраст реципиентов составил  $43,8 \pm 13,3$  года. Среди них было 5 детей в возрасте до 18 лет, возраст 7 реципиентов превышал 60 лет. 5 больным выполнена трансплантация фрагмента донорской печени (расширенная правая доля). В одном наблюдении выполнена комбинированная трансплантация печени и поджелудочной железы, в другом – печени и почки.

Исходы операций проанализированы по состоянию на 31 декабря 2011 года. Сроки наблюдения составили 6–84 мес., в среднем  $45,6 \pm 2,4$  мес.

Показания к трансплантации представлены в табл. 1.

Таблица 1

### Показания к трансплантации печени

Заболевания печени	n (%)
Вирусные гепатиты	29 (29)
Первичный билиарный цирроз (ПБЦ)	21 (21)
Первичный склерозирующий холангит (ПСХ)	6 (6)
Цирроз печени в исходе аутоиммунного гепатита (АИГ)	9 (9)
Алкогольный цирроз печени	9 (9)
Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК)	8 (8)
Нейроэндокринная опухоль	1 (1)
Поликистоз печени	1 (1)
Синдром Бадда–Киари	4 (4)
Ретрансплантация печени (тромбоз печеночной артерии, первично не функционирующий трансплантат, вторичный билиарный цирроз, возврат первичного билиарного цирроза)	6 (6)
Другие заболевания	6 (6)

Ретрансплантация в раннем послеоперационном периоде выполнена 4 пациентам, показаниями явились: отсутствие начальной функции трансплантата – 1, плохая начальная функция трансплантата – 2,

тромбоз печеночной артерии – 1. В двух наблюдениях ретрансплантация выполнена в поздние сроки после операции – через 1 год и 5,5 года после первичной ОТП в связи с развитием вторичного билиарного цирроза трансплантата и возвратом основного заболевания соответственно. В 6 (6%) наблюдениях имелся тромбоз воротной вены, установленный до операции или явившийся интраоперационной находкой, 2 (2%) пациента оперированы после имплантации трансъюгулярного портосистемного шунта (TIPS).

Тяжесть состояния оперированных пациентов по шкале Child-Pugh-Turcotte оценивалась следующим образом: класс А – 9 (9,5%), класс В – 46 (49%), класс С – 39 (41,5%). При оценке по шкале MELD среднее значение составило  $17 \pm 7$  (с колебаниями от 9 до 41,5).

## Хирургическая техника

Гепатэктомия с сохранением нижней полой вены реципиента (НПВ) выполнена в 84 наблюдениях, при этом в 80 из них сохранялся кровоток по НПВ на протяжении всего оперативного вмешательства (табл. 2). Детали применяемой техники и ее модификаций приведены в предыдущих публикациях [2, 12].

Таблица 2

### Варианты кавальной реконструкции при ОТП

Вариант	Без ВВО	С ВВО	Всего n (%)
Классическая техника	15	1	16 (16)
Анастомоз «бок в бок»	24	0	24 (24)
Анастомоз «конец в бок»	56	0	56 (56)
Техника «Piggy-Back»	2	2	4 (4)

Классическая техника использована в 16% наблюдений, при этом вено-венозный обход (ВВО) применялся только 1 раз. При формировании артериального анастомоза основным вариантом явилось соустье между общей печеночной артерией трансплантата и общей печеночной артерией реципиента на уровне желудочно-12-перстной артерии. У двух реципиентов использован артериальный конduit из подвздошных сосудов донора в связи с отсутствием пригодной для анастомозирования печеночной артерии.

Преимущественным вариантом билиарной реконструкции явилась холедохо-холедохостомия (82%), Т-образный дренаж использовался в 19,5% наблюдений. Холедохо-еюностомия по Ру выполнена в 18% операций.

Медиана времени холодовой ишемии трансплантата составила  $437 \pm 108$  минут. Медиана времени тепловой ишемии трансплантата –  $40 \pm 11$ .

**Иммуносупрессивная терапия** была представлена ингибиторами кальциневрина и микофенолатами с индукцией анти-CD-25-антителами или без нее. Стероиды назначались только больным, страдающим первичным билиарным циррозом, первичным склерозирующим холангитом, аутоиммунным гепатитом. Диагноз отторжения трансплантата устанавливался на основании клинических, биохимических и гистологических данных. Пульс-терапия глюкокортикостероидами (ГКС) в суммарной дозе от 750 мг до 1,5 г метилпреднизолона, как правило, назначалась с момента установления диагноза. В случае стероидорезистентного отторжения проводилась терапия моноклональными антителами.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Суммарный показатель выживаемости пациентов через 1, 3 и 5 лет после ОТП составил 89; 87; 87% соответственно. Показатель выживаемости трансплантатов в течение 1, 3 и 5 лет составил 85; 82; 70% (рис. 1).

Случаев интраоперационной летальности не наблюдалось. В раннем послеоперационном периоде (до 90 дней после трансплантации) погибли 8 (8,5%) пациентов (табл. 3).

В позднем послеоперационном периоде умерло 5 (5,3%) реципиентов. Причинами стали: рецидив и прогрессирование ГЦК – 2, фиброзирующий холестатический гепатит С – 1, центральный понтийный миелинолиз – 1, холангиогенный сепсис – 1.

Причинами потери трансплантата явились: смерть реципиента – 13 наблюдений, отсутствие начальной функции трансплантата – 3, тромбоз печеночной артерии – 1, возврат основного заболевания – 1, вторичный билиарный цирроз трансплантата – 1.

Хирургические осложнения операции ОТП и применявшиеся методы их лечения представлены в табл. 4–6.

Все осложнения, указанные в табл. 4, были успешно излечены. Из причинных факторов ранних кровотечений следует выделить предшествующие операции, потребовавшие обширного адгезиолиза при гепатэктомии у 2 реципиентов, послеоперационного применения заместительной почечной терапии с гепаринизацией у 2 реципиентов. В этих случаях источник кровотечения при релапаротомии не был выявлен. Только в одном наблюдении из семи выявлен источник кровотечения из ворот селезенки, что потребовало спленэктомии.

Частота осложнений, связанных с артериальной реконструкцией, составила 4%.

В одном случае наблюдали множественные ишемические стриктуры холедоха и внутриспеченочных желчных протоков с клиникой острого холан-

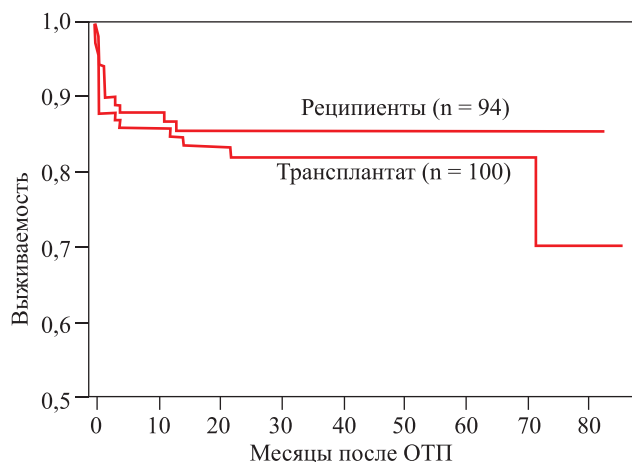


Рис. 1. Актuariальная выживаемость реципиентов и трансплантатов

Таблица 3

**Периоперационная смертность после ОТП**

Причина смерти	Количество	Срок после первичной операции (день)
Первично не функционирующий трансплантат	2	1, 2 (после ретрансплантации)
Сепсис на фоне плохой начальной функции	3	13, 24 (после ретрансплантации), 40 (после ретрансплантации)
Сепсис	2	18, 36
Кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода	1	15

Таблица 4

**Хирургические осложнения ОТП**

Осложнение	n	Метод коррекции	n
Кровотечение	8	Релапаротомия, остановка кровотечения	7
		Консервативная тактика	1
Перитонит	2	Релапаротомия, санация брюшной полости	2
Отграниченные жидкостные скопления	4	Чрескожное дренирование	4

гита. После эндоскопической дилатации стриктур было отмечено прогрессирование сепсиса, в связи с чем наступила смерть реципиента через 4,5 месяца после операции. Другие билиарные осложнения были успешно ликвидированы перечисленными в таблице методами, эффективность лечения составила 90%.

Таблица 5

**Сосудистые (артериальные) осложнения ОТП**

Осложнение	n	Метод коррекции	n
Ранний тромбоз печеночной артерии	1	Релапаротомия, ревизия анастомоза, ретрансплантация	1
Стеноз печеночной артерии	2	Баллонная ангиопластика со стентированием	2
Синдром обкрадывания	1	Эмболизация селезеночной артерии	1

Таблица 6

**Билиарные осложнения ОТП**

Осложнение	n	Метод коррекции	n
Отграниченное скопление желчи	1	Чрескожное дренирование	1
Подпеченочный абсцесс	2	Чрескожное дренирование Открытое дренирование	1 1
Множественные неанастомотические стриктуры (ишемического генеза)	1	Баллонная дилатация внутрипеченочных стриктур	1
Стриктура холедохо-холедохо-анастомоза	2	Ретроградное стентирование холедохо-холедохоанастомоза	2
	1	Холедохоеюностомия	1
Стриктура холедохо-еюноанастомоза	1	Чрескожная дилатация со стентированием	1
Холангиогенный абсцесс печени	1	Чрескожное дренирование	1
Вторичный билиарный цирроз	1	Ретрансплантация печени	1

Ретрансплантация (реОТП) была выполнена 6 больным (6,4%) в различные сроки после первичной операции: до 30 дней – 4, через 1 год и 5,5 года – 2. Среди ранних ретрансплантаций одна выполнена по поводу первично не функционирующего трансплантата (ПНФТ) через сутки после ОТП, 2 – в связи с плохой начальной функцией трансплантата через 18 и 20 суток после ОТП, 1 – в связи с тромбозом печеночной артерии на 11-е сутки после операции. Выживаемость больных после реОТП оказалась существенно ниже, чем у больных, перенесших одну трансплантацию (рис. 2).

Среди погибших после реОТП реципиентов причиной смерти в одном наблюдении стала острая сердечно-сосудистая недостаточность в первые часы после операции по поводу первично не функционирующего трансплантата, в двух наблюдениях – генерализация инфекционного процесса. Только в одном наблюдении ранняя реОТП, выполнен-

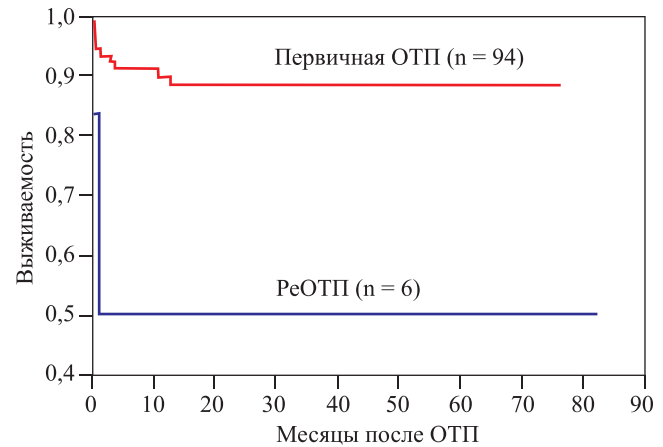


Рис. 2. Актуарияльная выживаемость реципиентов при первичной операции и ретрансплантации

ная на 11-е сутки в связи с тромбозом печеночной артерии, оказалась успешной. Напротив, две реОТП в отдаленном периоде не сопровождались осложнениями и имели положительный результат.

**Результаты ОТП при вирусных гепатитах**

Цирроз печени в исходе хронического вирусного гепатита С (без ГЦК) наблюдался у 21 больного, средний возраст составил  $48 \pm 11$  лет. Выживаемость реципиентов через 1 и 3 года была значительно ниже, чем у HCV-негативных, составив 70 и 76% соответственно (рис. 3).

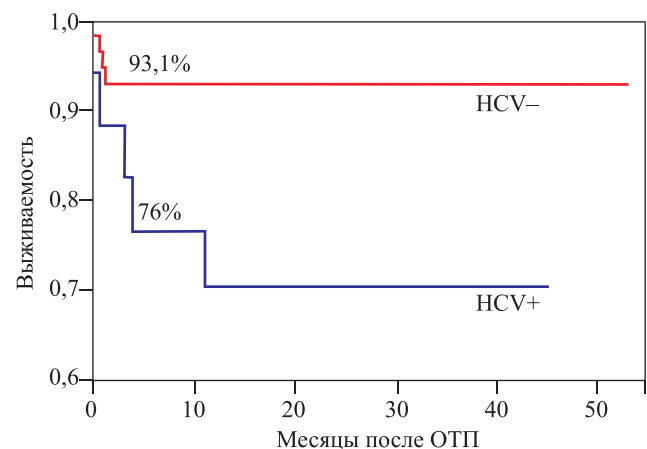


Рис. 3. Актуарияльная выживаемость HCV-позитивных и HCV-негативных реципиентов

Два реципиента погибли в раннем послеоперационном периоде.

Возврат заболевания диагностирован у 17 (89,5%) реципиентов, выживших после ОТП. Один пациент умер через 3 месяца вследствие фиброзирующего холестатического гепатита. Тяжелое течение гепатита С регистрировалось у 5 больных с 1В-генотипом и сопровождалось высоким уровнем активности аминотрансфераз, желтухой, коагулопа-

тией, отечно-асцитическим синдромом, двусторонним плевритом. Рецидив HCV-инфекции подтвержден гистологически у 12 реципиентов, что составило 70,6% больных данной группы. За два года наблюдения у одной пациентки зарегистрировано прогрессирование фиброза с F1 до F3, у остальных больных, кому проводилась гистологическое исследование в динамике, стадия фиброза не превысила F2.

Противовирусная терапия (ПВТ) в настоящее время является единственным методом предотвращения прогрессирования фиброза трансплантата у HCV-позитивных реципиентов и, как следствие, развития его цирротической трансформации. С 2008 года по показаниям мы проводим ПВТ (интерферон и рибавирин). Среди 8 больных, кто прошел полный курс лечения (24, 48, 72 недели), стойкий вирусологический ответ (СВО) – 12 месяцев после завершения ПВТ (HCV RNA отрицательная) был достигнут у 1 больного с генотипом 3А. Непосредственный вирусологический ответ (НВО) наблюдается у 4 больных (3 – с генотипом 1В, 1 – с генотипом 3А). Быстрый вирусологический ответ наблюдался у 2 пациентов, ранний вирусологический ответ – у 3 больных. У 2 пациентов с 1В-генотипом наблюдался частичный ранний вирусологический ответ (ЧРВО), у 1 больной с 1В-генотипом достичь ЧРВО не удалось, и лечение было остановлено.

ОТП была выполнена 14 больным циррозом печени в исходе HBV-инфекции, среди которых значимую часть (78,6%) составляли больные с ко-инфекцией HDV. Все пациенты на дотрансплантационном этапе получали профилактику аналогами нуклеозидов. Только в одном случае с целью профилактики реинфицирования трансплантата был использован HBIG по стандартной схеме. В течение послеоперационного периода применение нуклеозидных аналогов было продолжено у всех выживших больных. На фоне лечения у 25% больных в течение первого года зарегистрирована YMDD-мутация, что потребовало провести конверсию ПВТ на нуклеозидные аналоги 2-го и 3-го поколения.

Все пациенты, которые исходно получали ПВТ нуклеозидными аналогами 2-го и 3-го поколения, все время наблюдения оставались HBV DNA-негативными с клиренсом Hbs Ag и сероконверсией Hbs Ab. На момент написания статьи только у одного реципиента из данной группы клинически зарегистрирована цирротическая трансформация трансплантата в результате манифестации HBV-инфекции, ко-инфекции HDV на фоне отмены ПВТ ламивудином. В течение 18 месяцев после конверсии ПВТ на энтекавир у больной наблюдается статус HBV DNA-, HDV RNA+ в сочетании с нормализацией активности печеночных ферментов и уровня АФП.

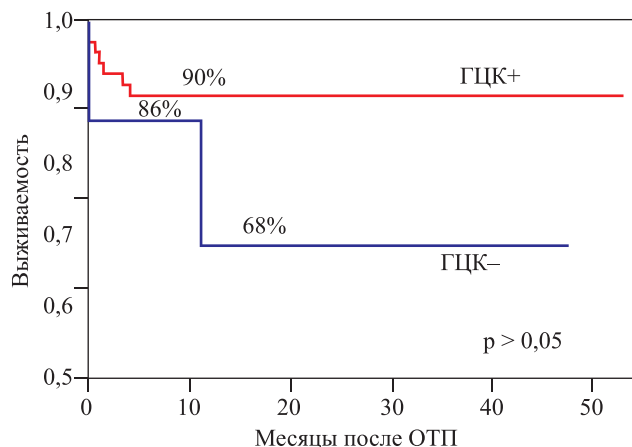


Рис. 4. Актуаральная выживаемость реципиентов с ГЦК и без ГЦК

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) на фоне цирроза печени вирусной этиологии являлась показанием к трансплантации у 8 реципиентов. Средний возраст реципиентов с данным диагнозом составил  $56,75 \pm 11$  лет. Рецидив ГЦК через 5 и 8 месяцев после ОТП был диагностирован у 2 больных, имевших билобарное поражение печени, выходящее за пределы «Миланских критериев» на момент трансплантации. Смерть наступила через 11 и 13 месяцев после операции соответственно.

Выживаемость реципиентов через 1 и 3 года составила 86 и 68% соответственно (рис. 4).

Начальная иммуносупрессивная терапия (анализ 92 пациентов) базировалась на такролимусе – 75 (81,5%) больных, циклоспорине А (ЦсА) – 12 (13,1%), и 5 (5,4%) получали пролонгированную форму такролимуса в рамках клинического исследования. В схеме начальной иммуносупрессии 39 (42,4%) реципиентов получали метилпреднизолон, 76 (82,6%) – препараты микофеноловой кислоты.

Первые 11 реципиентов, оперированные в 2004–2006 гг., получали трехкомпонентную иммуносупрессию на основе ЦсА в сочетании со стероидами и препаратами микофеноловой кислоты. Острое отторжение трансплантата диагностировано у 4 (36,4%) больных в сроке до 6 месяцев после операции. В дальнейшем у 10 произведена конверсия на такролимус в сроки от 18 дней до 1,5 года по различным причинам: стероидорезистентное острое отторжение трансплантата, хроническое отторжение, дисфункция трансплантата неуточненной этиологии, полная отмена стероидов. У всех больных получено отчетливое улучшение клинических и лабораторных показателей.

С сентября 2006 года внедрен бесстероидный протокол иммуносупрессии, основанный на такролимусе [13]. Частота острого отторжения, подтвержденного биопсией, после этого не превышала 15% в течение первого года после операции. На мо-

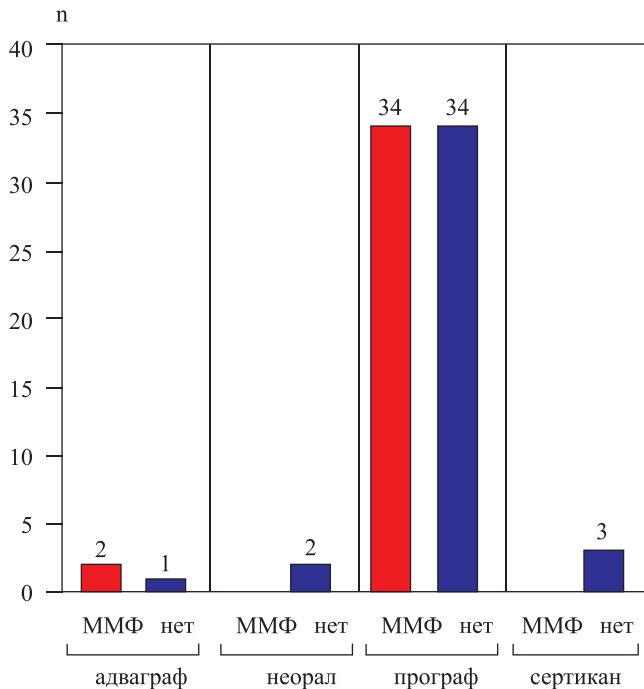


Рис. 5. Количественное распределение реципиентов, принимающих ММФ

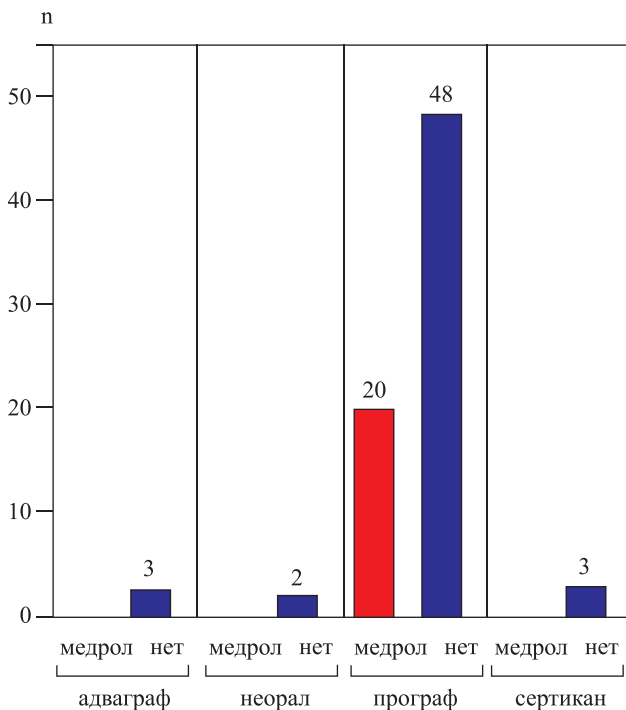


Рис. 6. Количественное распределение реципиентов, принимающих глюкокортикоиды

мент написания статьи для анализа поддерживающей иммуносупрессивной терапии доступны данные 76 реципиентов, из которых у 68 (89,5%) базисным препаратом иммуносупрессии является такролимус (Програф), у 2 (2,6%) – ЦсА (Неорал), эверолимус (Сертикан) получают 3 (3,9%) пациента, пролонгированную форму такролиму-

са (Адваграф) – 3 (3,9%). 36 (47,4%) пациентов получают микофенолата мофетил (ММФ) и только 20 (26,3%) – глюкокортикоиды в минимальных дозах (рис. 5, 6).

Таким образом, наиболее часто используемыми схемами иммуносупрессивной терапии являются монотерапия такролимусом (20%) и комбинация такролимуса и ММФ (47%).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Сегодня трансплантация печени представляет собой наиболее оптимальный способ помощи больным с острыми и хроническими заболеваниями печени в терминальной стадии [15, 17, 25, 31]. Успех операции зависит от взаимодействия большого коллектива специалистов терапевтического и хирургического профиля, анестезиологов-реаниматологов.

Наблюдаемый в последние 3 года рост числа операций, выполняемых в нашем центре, до 20 и более в год позволил расширить показания к трансплантации печени, переоценив структуру листа ожидания (ЛО). Если до 2007 года в ЛО преобладали больные с циррозом печени в исходе аутоиммунных и холестатических заболеваний, алкогольной болезни печени, то в дальнейшем произошло смещение акцентов в сторону пациентов с циррозом печени в исходе вирусных гепатитов, отражая общемировые тенденции. Вместе с этим произошло увеличение тяжести оперируемых пациентов при оценке по шкалам Child-Pugh-Turcotte и MELD. Цирроз печени в исходе HCV-инфекции к настоящему времени стал наиболее частым показанием для трансплантации печени. Как показано во многих исследованиях, выживаемость HCV-положительных реципиентов после трансплантации печени значительно хуже, чем HCV-негативных. Обусловлено это тем, что данная группа наиболее проблемна как с терапевтической, так и с хирургической точек зрения [14, 16, 24].

Собственные результаты демонстрируют снижение показателей ранней выживаемости HCV-положительных реципиентов и достаточно удовлетворительные отдаленные результаты, несмотря на неизбежное развитие возвратной HCV-инфекции. Вопросы времени и объема проведения ПВТ, а также модификации иммуносупрессии требуют дальнейшего изучения [9, 14, 18].

С 2007 года в ЛО избирательно включаются пациенты с опухолевым поражением печени на фоне цирроза вирусной этиологии. Общемировой тенденцией остается стратификация реципиентов по различным критериям для увеличения выживаемости реципиентов и оптимального распределения донорских органов [11, 26]. Так, показано, что приверженность к отбору реципиентов с ГЦК согласно «Миланским критериям» [21] позволяет сохра-

нять уровень рецидива в 5% и обеспечивает хорошие показатели отдаленной выживаемости, сопоставимые с «неонкологической» популяцией реципиентов. К сожалению, в нашей практике при длительных периодах ожидания не всегда удается выполнить операцию при небольших размерах опухоли, что обуславливает более высокую отдаленную летальность в данной группе больных, однако актуальная выживаемость значимо не отличается от общей группы реципиентов. В нашей небольшой серии рецидивы опухоли, приведшие к смерти больных, отмечены в 25% наблюдений. Наиболее обсуждаемыми остаются вопросы проведения адьювантного и неoadьювантного лечения [23, 26].

Особое значение нами придается переносимости и безопасности операции. На протяжении 7 лет в нашем центре совершенствование идеологии и техники операции прошло путь от рутинного стремления к сохранению НПВ реципиента при выполнении гепатэктомии до индивидуализации хирургического алгоритма в зависимости от интраоперационных условий и более частого использования классической техники, но без применения ВВО [2, 12]. Несомненным является тот факт, что отказ от ВВО вне зависимости от техники операции возможен только при специальных подходах в обеспечении анестезиологического пособия.

Течение раннего послеоперационного периода и благоприятный исход операции определяются, в первую очередь, хорошей начальной функцией трансплантата и отсутствием хирургических осложнений.

Увеличение количества операций за счет использования «маргинальных доноров» или доноров с расширенными критериями происходит во всем мире. В современных отечественных условиях, когда возможность экстренной ретрансплантации при ПНФТ представляется трудно реализуемой, мы сдержанно относимся к понятию «расширенные критерии». Наш опыт показал, что использование органов от доноров старшей возрастной группы, с нестабильной гемодинамикой, уровнем натрия сыворотки крови до 170 ммоль/л, макровезикулярным стеатозом до 30%, может быть допустимо, однако необходимо избежать следующих неблагоприятных факторов: продолжительности времени холодовой ишемии более 8 часов, тепловой ишемии более 40 минут. Неоспоримой является необходимость соотнесения степени тяжести состояния реципиента, срочности выполнения операции и качества трансплантата. Использование трансплантатов от доноров с расширенными критериями для HCV-позитивных реципиентов крайне нежелательно.

Среди 100 трансплантаций частота осложнений, требующих хирургической коррекции в раннем по-

слеоперационном периоде, составила 23%, из них 14 (60,9%) потребовали повторных операций (релапаротомия), а 9 (39,5%) были пролечены с использованием малоинвазивных методов.

Послеоперационные кровотечения в основном были представлены коагулопатическими кровотечениями различной интенсивности. В основе кровотечения, как правило, лежит предшествующий дефицит факторов свертывания крови, массивная интраоперационная кровопотеря. При ревизии обнаружить источник кровотечения, как правило, не удается. В связи с этим мы сдержанно относимся к релапаротомии в первые часы после операции, проводя консервативную гемостатическую терапию с трансфузией компонентов крови. Санационная релапаротомия выполняется при отсутствии стабилизации состояния пациента в первые сутки или в период до 72 часов при выявлении отграниченных скоплений и сгустков в полости брюшины. Особый случай составляет кровотечение в симптомокомплексе первично не функционирующего трансплантата, что требует применения факторов свертывания крови, массивной гемотрансфузии и экстренной ретрансплантации печени.

По данным литературы, одним из наиболее частых осложнений, связанных с кавальной реконструкцией трансплантата, является блок оттока как интраоперационно, так и в раннем послеоперационном периоде [19, 28]. Нарушения оттока коррелируют с количеством и диаметром вен, использованных для анастомоза при методике Piggy-Back. Также причинами нарушения оттока является объемный печеночный трансплантат и тип кавального анастомоза [5, 20]. В нашей серии наблюдений ни в раннем, ни в позднем послеоперационном периоде нарушения оттока от трансплантата не было выявлено.

Несмотря на прецизионность формирования артериального анастомоза, частота тромбоза печеночной артерии в раннем послеоперационном периоде достигает 5–8% [29], что при отсутствии коррекции приводит, за редким исключением, к гибели трансплантата. В нашей серии наблюдений частота данного осложнения составила 1%, при этом выполнена ретрансплантация печени с благоприятным непосредственным и отдаленным результатом. Наш опыт подтверждает также тезис о том, что современные возможности рентгеноэндоваскулярной хирургии позволяют с успехом ликвидировать стеноз анастомоза печеночной артерии или синдром обкрадывания.

Значительно менее частым осложнением сосудистой реконструкции является тромбоз воротной вены. Нами не наблюдался тромбоз воротной вены в раннем послеоперационном периоде, а в сроки от 1 до 4 лет после ОТП при УЗ-скрининге он выявлен

у 4 реципиентов, при этом функция трансплантата оставалась стабильной, клинические симптомы отсутствовали.

Частота билиарных осложнений, по данным различных авторов, достигает 30% [7, 15, 25]. Большинство из них наблюдается в раннем послеоперационном периоде. Хотя сами билиарные осложнения не становятся непосредственной причиной смерти, их последствия (абсцесс, перитонит, вторичный билиарный цирроз трансплантата) обуславливают до 9,6% летальных исходов после трансплантации печени. Наибольшее значение для раннего послеоперационного периода имеет несостоятельность холедохо-холедохо и холедохо-интестинальных соустьев. В раннем послеоперационном периоде мы наблюдали 2 желчных скопления (1 – после сплит-трансплантации расширенной правой доли печени, 1 – после осложненной папиллосфинктеротомии).

Развитие билиарных стриктур характерно для более поздних сроков после трансплантации печени [10, 15]. Кроме того, на фоне нарушения желчеоттока возможно развитие холедохолитиаза. Способ лечения данной группы осложнений зависит от этиологии стриктуры и вида реконструкции во время операции. При формировании билио-билиарного соустья предпочтительным является ретроградная эндоскопическая коррекция. В то же время при холедохоеюностомии преимущественным методом коррекции становится хирургическое вмешательство. Однако в одном наблюдении реципиенту успешно выполнено антеградное стентирование билиодигестивного соустья.

Частота ретрансплантации в нашем исследовании составила (6%), при этом летальность после операции составила 50%. Следует подчеркнуть, что операция должна быть выполнена как можно раньше, так как развитие инфекции на фоне дисфункции трансплантата фактически не поддается контролю [8]. Это подтверждают 2 наблюдения плохой начальной функции трансплантата, где операции выполнены на 20-е и 22-е сутки после ОТП на фоне развивающейся инфекции у реципиентов, что в конечном итоге повлекло смерть больных.

Отдельно следует выделить операции реОТП в отдаленные сроки. В брюшной полости развивается обширный спаечный процесс, вовлекающий как висцеральную, так и диафрагмальную поверхность печени, а это, в свою очередь, определяет исключительные технические сложности при выполнении гепатэктомии. Тем не менее в обоих наших наблюдениях был получен хороший результат.

Уникальность трансплантации печени в том, что этот орган является «иммуноприлежителем». Однако в большинстве случаев иммуносупрессия остается обязательной. Первичной целью иммуносупрессии является предотвращение отторжения

и потери трансплантата, а вторичной – избежание неблагоприятных последствий иммуносупрессии. Наилучший эффект по контролю реакции отторжения, возврата заболевания и минимизации побочных эффектов иммуносупрессии достигается при использовании моно- или двухкомпонентных протоколов, что позволяет воздействовать на различные механизмы трансплантационного иммунитета и добиваться хорошего качества жизни реципиентов. Использование современных протоколов подразумевает назначение минимальных доз препаратов, а также возможность отмены или замены компонентов протокола в зависимости от исходного заболевания, индивидуальной переносимости, почечной функции, функционального состояния трансплантата и общего состояния реципиента [27, 31].

Базисным препаратом иммуносупрессии на протяжении первых двух лет от момента начала программы был ЦсА. Начиная с 2006 года на основании данных о снижении числа острых кризов отторжения при терапии такролимусом [13] нами начато использование протокола, включающего такролимус и ММФ с индукцией анти-CD-25-антителами. Основной привлекательной особенностью данного протокола является отказ от использования глюкокортикостероидов. Последующее накопление опыта показало, что далеко не все реципиенты в раннем послеоперационном периоде могут его соблюсти, в основном в связи с гематологическими побочными эффектами ММФ. Более 25% больных изначально получали однокомпонентную терапию такролимусом. Одновременно с этим формировался индивидуальный протокол иммуносупрессивной терапии в зависимости от нозологической формы цирроза печени, послужившего показанием к трансплантации печени. В настоящее время пациенты с вирусными циррозами печени преимущественно получают монотерапию такролимусом. При циррозе печени в исходе АИГ/ПБЦ/ПСХ мы стремимся соблюсти трехкомпонентную схему иммуносупрессии ввиду высокой иммунной реактивности пациента для профилактики отторжения и возврата основного заболевания.

Согласно современным представлениям, пациентам с исходным диагнозом «гепатоцеллюлярная карцинома» показано введение в схему иммуносупрессии mTor-ингибиторов. Однако ввиду высокого риска тромбоза печеночной артерии и ранних осложнений назначение данных препаратов должно быть отсрочено до конца раннего посттрансплантационного периода. Поэтому большинство наших пациентов, оперированных по поводу ГЦК, получали монотерапию такролимусом до 3 месяцев после операции, с последующим введением эверолимуса и минимизацией или исключением такролимуса.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Готье С.В. Настоящее состояние и перспективы трансплантации печени в России // Тезисы докладов Первого конгресса московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь». М., 2005. С. 288–289.
2. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Корнилов М.Н. Выбор хирургической техники при ортотопической трансплантации печени // Анналы хирургической гепатологии. 2011. Т. 16. № 1. С. 10–16.
3. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С. Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 гг. III сообщение регистра Российского трансплантологического общества // Вестник транспл. и искусств. орг. 2011. Т. XIII. № 2. С. 6–20.
4. Гранов Д.А., Боровик В.В., Жеребцов Ф.К. Ретрансплантация печени, опыт Российского научного центра радиологии и хирургических технологий (РНЦРХТ) // Вестник транспл. и искусств. орг. 2011. Т. XIII. № 4. С. 43–48.
5. Жеребцов Ф.К., Гранов Д.А., Польшалов В.Н. и др. Способ формирования кавакавального анастомоза при ортотопической пересадке трупной печени с сохранением нижней полой вены реципиента // Вестник транспл. и искусств. орг. 2006. № 3. С. 25–27.
6. Мойсюк Я.Г., Погребниченко И.В., Милосердов И.А. и др. Трансплантация трупной печени в Центре им. академика В.И. Шумакова // Вестник транспл. и искусств. орг. 2010. Т. XII. № 2. С. 8–9.
7. Олесов О.Д. Билиарные осложнения после ортотопической трансплантации печени // Трансплантология. 2009. № 2. С. 44–49.
8. Попцов В.Н., Мойсюк Я.Г., Ухренков С.Г. и др. Неотложные состояния при трансплантации печени // Вестник транспл. и искусств. орг. 2010. Т. XII. № 2. С. 10–13.
9. Сюткин В.Е., Андрейцева О.И., Чжао А.В. Изучение возможностей противовирусной терапии гепатита С трансплантата печени // Вестник транспл. и искусств. орг. Т. XIII. № 1. С. 17–26.
10. Хубутия М.Ш., Андрейцева О.И., Журавель С.В. и др. Результаты трансплантации печени в НИИСП им. Н.В. Склифосовского // Вестник транспл. и искусств. орг. 2010. Т. XII. № 2. С. 14–15.
11. Хубутия М.Ш., Салиенко А.А., Чжао А.В. Трансплантация печени при ее злокачественных поражениях // Анналы хирургической гепатологии. 2011. Т. 16. № 1. С. 17–22.
12. Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Шаршаткин А.В. Эволюция хирургической техники трансплантации печени // Вестник транспл. и искусств. орг. 2006. № 2. С. 18–24.
13. Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н. и др. Опыт трансплантации печени в одном центре: современные технологии и проблемы улучшения результатов // Вестник транспл. и искусств. орг. 2008. № 1. С. 5–13.
14. Berenguer M. Hot topic in hepatitis C virus research: the type of immunosuppression does not matter // Liver Transpl. 2011. Vol. 17. № 11. Suppl. 3. P. 24–28.
15. Busuttil R.W., Shaked A., Millis J.M. et al. One thousand liver transplants. The lessons learned // Ann. Surg. 1994. Vol. 219. P. 490.
16. Forman L.M., Lewis J.D., Berlin J.A. et al. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation // Gastroenterology. 2002. Vol. 122. P. 889.
17. Jain A., Reyes J., Kashyap R. et al. Long-term survival after liver transplantation in 4,000 consecutive patients at a single center // Ann. Surg. 2000. Vol. 232. P. 490.
18. Lavezzo B., Franchello A., Smedile A. et al. Treatment of recurrent hepatitis C in liver transplants: efficacy of a six versus a twelve month course of interferon alfa 2b with ribavirin // J. Hepatol. 2002. Vol. 37. P. 247.
19. Lerut J., Tzakis A.G., Bron K. et al. Complication of venous reconstruction in human orthotopic liver transplantation // Ann. Surg. 1988. Vol. 205. P. 404.
20. Lerut J.P., Molle G., Donataggio M. et al. Cavocaval liver transplantation without venovenous bypass and without temporary portocaval shunting: the ideal technique for adult liver grafting? // Transpl. Int. 1997. Vol. 10. P. 171.
21. Mazzaferro V., Regalia E., Doci R. et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis // N. Engl. J. Med. 1996. Vol. 334. P. 693.
22. Platz K.P., Mueller A.R., Schafer C. et al. Influence of warm ischemia time on initial graft function in human liver transplantation // Transplant. Proc. 1997. Vol. 29. P. 3458.
23. Roayaie S., Frischer J.S., Emre S.H. et al. Long-term results with multimodal adjuvant therapy and liver transplantation for the treatment of hepatocellular carcinomas larger than 5 centimeters // Ann. Surg. 2002. Vol. 235. P. 533.
24. Saab S., Wang V. Recurrent hepatitis C following liver transplant: diagnosis, natural history, and therapeutic options // J. Clin. Gastroenterol. 2003. Vol. 37. P. 155.
25. Salizzoni et al. The first 1000 liver transplants in Turin // Transplant International. 2005. Vol. 18. P. 1328–1335.
26. Samuel D., Colombo M., El-Seraq H. et al. Toward optimizing the indications for orthotopic liver transplantation in hepatocellular carcinoma // Liver Transpl. 2011. Vol. 17. № 10. Suppl. 2. P. 6–13.
27. Schlitt H.J., Barkmann A., Boker K.H. et al. Replacement of calineurin inhibitors with mycophenolate mofetil in liver transplant patient with renal dysfunction: randomized controlled study // Lancet. 2001. № 357. P. 587–591.
28. Settmacher U., Nussler N.C., Glanemann M. et al. Venous complications after orthotopic liver transplantation // Clin. Transplant. 2000. Vol. 14. P. 235.
29. Stange B.J., Glanemann M., Nuessler N.C. et al. Hepatic artery thrombosis after adult liver transplantation // Liver Transpl. 2003. Vol. 9. P. 612.
30. Starzl T.E., Marchioro T.L. et al. Homotransplantation of the liver in humans // Surgery, Gynecology and Obstetrics 1963. Vol. 117. P. 659–676.
31. Wiesner R.H., Fung J.J. Present state of immunosuppressive therapy in liver transplant recipients // Liver Transpl. 2011. Vol. 17. № 11. Suppl. 3. P. 1–9.



## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧЕК, ПОЛУЧЕННЫХ У ДОНОРОВ ПОСЛЕ ОСТАНОВКИ СЕРДЦА

*Розенталь Р.Л., Юшинскис Я.Л., Трушков С.В., Бицанс Я.Б., Шевелев В.Н., Мальцев А.В.*

Латвийский центр трансплантации, г. Рига

Среди 668 трансплантаций почек, выполненных в 2000–2005 годах, 68 трансплантатов были получены от доноров после остановки сердца (ДПОС) и 176 – от доноров с бьющимся сердцем в состоянии смерти мозга (ДБС). Непосредственные результаты трансплантации (количество нефункционирующих трансплантатов, процент отсроченных функций, ранние острые отторжения) были одинаковыми в обеих группах. Выживаемость больных в течение 5 лет после трансплантации составляла 85% от ДПОС и 88% от ДБС. Выживаемость трансплантатов составила соответственно 77 и 85%.

Результаты показали, что использование почечных трансплантатов, полученных от доноров после остановки сердца, может быть существенным дополнительным источником в решении проблемы органного донорства.

*Ключевые слова: трансплантация почки, получение донорских почек умерших после остановки сердца, сокращение времени тепловой ишемии.*

## KIDNEY TRANSPLANTATION FROM DONORS AFTER CARDIAC DEATH

*Rozental R.L., Ushinskis Y.L., Trushkov S.V., Bitsans Y.B., Shevelev V.N., Malcev A.V.*

Latvian Transplantation Center, Riga

From 668 kidney transplantations performed during the period 2000–2005 68 grafts were recovered from donors after cardiac death and 176 from donors with confirmed brain death. Early results (number of primarily non-functioning grafts, rates of delayed graft function and acute rejections) were similar in both groups. 5-year patient survival was 85% from donors after cardiac death and 88% from donors with confirmed brain death. 5-year graft survival was 77% and 85%, respectively.

Results showed that the use of kidney grafts recovered from donors after cardiac death is valuable additional source of donor organs.

*Key words: kidney transplantation, kidney graft recovery from donors after cardiac death, reducing warm ischemia time.*

### ВВЕДЕНИЕ

Недостаток донорских органов для трансплантации существенно ограничивает возможности лечения тяжелых больных. Известный прогресс связывают с интенсификацией трансплантации от живых доноров, использованием органов с расширенными критериями, удалением почек блоком у детских доноров и т. д. Одним из путей расширения возмож-

ностей донорства является изъятие органов у умерших после остановки сердца [5, 8]. В Европе эту категорию именуют донорами с небьющимся сердцем (поп heart beating donors, NHBD), в США – донорами после остановки сердца (donors after cardiac death, DCD) [3, 4]. В настоящем сообщении анализируется наш опыт лечения больных с помощью трансплантации почек, полученных после остановки сердца.

*Статья поступила в редакцию 21.10.11 г.*

**Контакты:** *Розенталь Рафаил Леонович, руководитель Латвийского центра трансплантации.*

**Тел.** +371 6706 9543, **e-mail:** *Rafail\_Rozental@transplantation.lv*

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести сравнительный анализ результатов трансплантации почек, полученных от доноров после остановки сердца и после констатации смерти мозга.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2000-го по 2009 год в Латвийском центре было проведено 668 трансплантаций почек, полученных от умерших доноров. После остановки сердца мы использовали доноров 3-й и 4-й категории, согласно Маастрихтской классификации (3-я категория – ожидаемая остановка сердца, 4-я – остановка сердца в процессе констатации смерти мозга) [7]. С момента констатации стабильной асистолии и до начала изъятия органов проходило 2–5 минут. Мозговая смерть констатировалась на основании общепринятых клинических критериев.

Аналізу подвергнуты результаты первичных трансплантаций почек, проведенных в период 2000–2005 годов. Донорские почки были получены от 244 умерших доноров: у 68 доноров после остановки сердца (ДПОС) и у 176 после констатации смерти мозга (доноры с бьющимся сердцем, ДБС).

Консервацию осуществляли бесперфузионным способом, используя кустодиол. Среднее время консервации 16 ± 5 часов. Всего была проведена 351 первичная трансплантация почек: 107 от ДПОС и 244 от ДБС. Процент предрасполагающих антител колебался в пределах 0–20%. Подбор пар «донор–реципиент» осуществлялся по АВО-совместимости и при негативной перекрестной пробе. У всех больных для индукционной терапии использовался симулект (basiliximab), профилактическая иммуносупрессия включала сандиммун неорал, микофенолат мофетила и преднизолон. Кризы отторжения лечили пульсовыми дозами метилпреднизолона, а в случае неэффективности – антитимоцитарным глобулином.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение 10 лет количество органов, полученных от доноров с остановившимся сердцем, прогрессивно нарастало (рис. 1).

Возрастной состав доноров и реципиентов в обеих группах был одинаковым. Существенных отличий в непосредственных результатах лечения не наблюдалось (табл.). Процент нефункционирующих трансплантатов, полученных от доноров после остановки сердца, составил 1,8 при 1,6% в другой группе. Отсроченная функция трансплантатов наблюдалась в 14,0 и 12,3% соответственно. Не было существенного отличия также в развитии острой

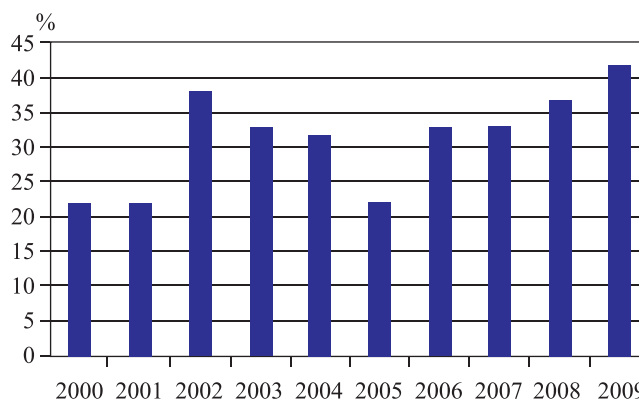


Рис 1. Процент использования доноров после остановки сердца в течение 10 лет

Таблица

### Сравнительные результаты первичных трансплантаций почек, полученных от доноров после остановки сердца и после констатации смерти мозга (2000–2005 гг.)

Фактор / Тип донора	ДПОС	ДБС	p
Количество	107	244	
Возраст доноров, года	42,7 ± 11,5	39,3 ± 13,5	NS
Возраст реципиентов, года	45,6 ± 14,5	44,2 ± 15,0	NS
НФТ	2 (1,8%)	4 (1,6%)	NS
ОФТ	15 (14,0%)	30 (12,3%)	NS
ОРО	33 (30,8%)	70 (28,6%)	NS
Потери трансплантатов	25 (23,3%)	37 (15,2%)	0,046
Летальность	16 (15,0%)	30 (12,3%)	NS

Примечание. НФТ – нефункционирующие трансплантаты, ОФТ – отсроченная функция трансплантатов, ОРО – острая реакция отторжения.

реакции отторжения (30,8 и 28,6% соответственно). Некоторые различия наблюдались при исследовании отдаленных результатов: 5-летняя выживаемость трансплантатов была несколько выше при пересадке почек, полученных у доноров в состоянии смерти мозга (p = 0,046, рис. 2). Выживаемость пациентов в обеих группах была практически одинаковой (рис. 3).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты наших наблюдений показали отсутствие разницы в непосредственных результатах трансплантаций почек, полученных как от доноров в состоянии смерти мозга, так и после контролируемой остановки сердца. Эти данные могут служить подтверждением существующих исследований о побочном действии смерти мозга на функцию органов, несмотря на сохранение адекватной циркуляции и оксигенации. Ишемические повреждения мозга приводят к сдвигам во многих системах организма

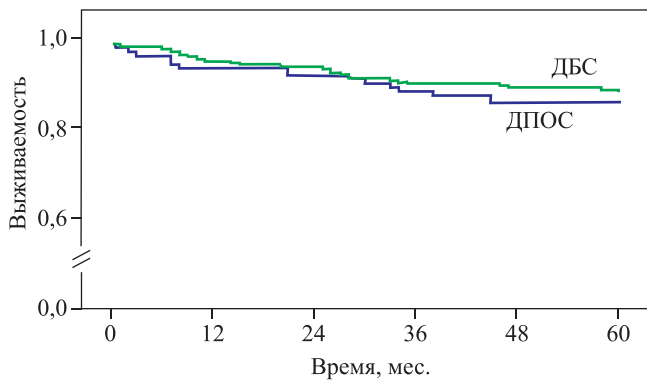


Рис 2. Пятилетняя выживаемость больных после трансплантации почки (диаграмма Каплана–Мейера)

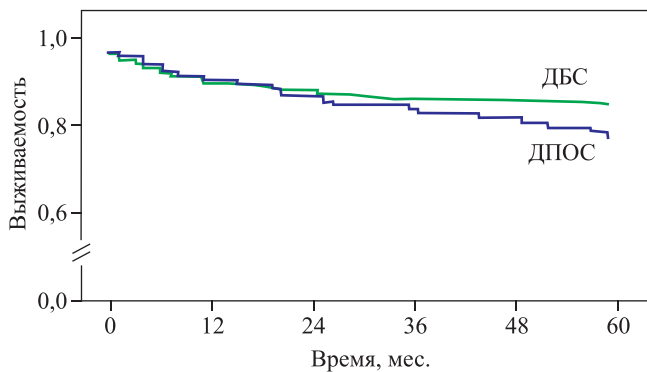


Рис 3. Пятилетняя выживаемость почечных трансплантатов (не учитывая потерю трансплантата вследствие смерти реципиента с работающим трансплантатом, диаграмма Каплана–Мейера)

(гиповолемиа, гипоксия, коагулопатия), что отражается на функции трансплантатов [11]. Такие наблюдения вместе с постоянным ростом потребностей в органах сделали вполне легитимным, корректным и установившимся донорство после остановки сердца, позволяющее расширить трансплантологическую помощь.

Существенной проблемой получения органов после остановки сердца является максимально возможное сокращение времени безопасной тепловой ишемии. Разработанные американской ассоциацией трансплантологов стандарты контролируемого донорства после остановки сердца [9] оставляют открытой проблему сокращения периода безопасной ишемии в условиях остановки сердца. С этой целью в последние годы в «правилах смерти донора» *pop touch period* сократился с 30 до 2–5 минут. Кроме этого, предложен ряд искусственных методов сокращения повреждающего действия тепловой ишемии: перфузия органов охлажденной консервирующей жидкостью через заранее канюлированные бедренные сосуды, использование реперфузионной техники для нормотермической экстракорпоральной оксигенации и т. д. [1, 2, 10]. Они эф-

фективны в течение определенного срока, однако их может не хватить при необходимости решения легитимных вопросов согласия/несогласия на изъятие органов, выраженного донором при жизни или после смерти его родственниками. Наши наблюдения показали, что при законодательно регламентированном презумпированном согласии и отсутствии информации в регистре жителей можно решать легитимную проблему ДПОС еще в период, когда имеются данные о только возможной остановке сердца, соответственно сокращая число неиспользованных доноров и увеличивая число трансплантаций [6].

Таким образом, наши наблюдения показывают эффективность трансплантации почек, полученных от доноров после остановки сердца. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию взаимоотношений между реаниматологами и трансплантационными бригадами для улучшения функции органов, изъятых у доноров после остановки сердца.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Багненко С.Ф., Мойсюк Я.Г., Скворцов А.Е., Резник О.Н.* Реабилитация донорских почек. Направление в консервации или новая парадигма в трансплантологии // *Вестник трансплантол. и искусств. органов.* 2009. № 3. С. 17–29.
2. *Минина М.Г.* О некоторых аспектах организации органного донорства // *Вестник трансплантол. и искусств. органов.* 2010. № 3. С. 81–88.
3. *Bernat J.L., Alessandro A.M., Port F.K. et al.* Report of national conference on donation after cardiac death // *Am. J. Transplant.* 2006. Vol. 6. P. 281–291.
4. *Blackstock M., McKeon D.W. and Ray D.C.* Controlled organ donation after cardiac death; potential donors in the emergency department // *Transplantation.* 2010. Vol. 88. P. 1149–1153.
5. *Dominquez-Gil B., Haase-Kromwijk B., Van Leiden H. et al.* Current situation of donation after circulatory death in European countries // *Transplant. Int.* 2011. Vol. 24. P. 676–686.
6. *Jushinskis J., Trushkov S., Suhorukov V., Shevelev V., Bicans J., Rozental R.* Influence of demographical and administrative factors on the deceased organ donor rate in Latvia // *Organ transplantation: ethical, legal and psychosocial aspects*; eds. Weimar W., Bos M.A., Busschbach J.J.V. Pabst Science Publishers, Berlin, 2010. P. 289–293.
7. *Koostra G., Daemen J.H.S., Domen A.P.A.* Categories of non-heart beating donors // *Transplant. Proceed.* 1995. Vol. 27. P. 2893–2894.
8. *Moers C., Leuvenink H.G.D., Ploeg R.J.* Donation after cardiac death: evaluation of revisiting an important donor source // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25. P. 666–673.

9. *Reich D.J., Mulligan D.C., Abt P.L. et al.* ASTS recommended practice guidelines for controlled donation after cardiac death organ procurement and transplantation // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9. P. 2004–2011.
10. *Rojas-Pena A., Reoma J.L., Krause E. et al.* Extracorporeal support: improves donor renal graft function after cardiac death // *Am. J. Transplant.* 2010. Vol. 10. P. 1365–1374.
11. *Vries D.K., Lindeman J.H., Ringers J. et al.* Donor brain death predisposes human kidney graft to a proinflammatory reaction after transplantation // *Am. J. Transplant.* 2011. Vol. 11. P. 1064–1070.

## КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ФОРМИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ПЕРЕСАДКИ ПЕЧЕНИ

Бузулина В.П., Пронченко И.А., Ермакова И.П., Корнилов М.Н., Ярошенко Е.Б., Мнацаканян Д.С., Колиашвили Т.К., Шмерко Н.П.

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

Анализировали динамику изменения трех маркеров формирования кости у 34 реципиентов после трансплантации печени. Выявлены три основных типа отклонений: сочетание высоких значений остеокальцина (ОК) и аминокотерминального пропептида проколлагена 1-го типа (АТППК1) с нормальными величинами костной щелочной фосфатазы (КЩФ), характерное для раннего восстановления функции трансплантата без клинических осложнений; сочетание низких значений ОК и КЩФ с нормальными величинами АТППК1, связанное с подавлением функции остеобластов в результате использования высоких доз глюкокортикоидов; изолированное увеличение АТППК1 на фоне нормальных значений ОК и КЩФ, которое может быть следствием избыточного отложения фибриллярных матриксных коллагенов при отсроченном восстановлении функции трансплантата.

*Ключевые слова:* ортотопическая трансплантация печени, биохимические маркеры формирования кости, минеральная плотность костной ткани.

## CLINICAL ASPECTS AND BIOCHEMICAL MARKERS OF BONE FORMATION AFTER LIVER TRANSPLANTATION

Buzulina V.P., Pronchenko I.A., Yermakova I.P., Kornilov M.N., Yaroshenko E.B., Mnatsakanyan D.S., Koliashvili T.K., Shmerko N.P.

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

Biochemical markers of bone formation [osteocalcin (OC), N-terminal propeptid of type 1 procollagen (P1NP), bone isoferment of alkaline phosphatase (BALP)] were estimated in 34 recipients after liver transplantation. Three types of deviation have been demonstrated: combination elevated circulating levels OC and P1NP with normal levels BALP in recipients without clinical postoperative complication; combination lower levels OC and BALP with normal levels P1NP in recipients as a result of corticosteroid therapy prior/ following transplantation; superior levels P1NP with normal levels OC and BALP which results excessive accumulation hepatic collagen formation in recipients with postoperative clinical complication.

*Key words:* orthotropic liver transplantation, biochemical markers of bone formation, bone mineral density.

### ВВЕДЕНИЕ

Использование современных биохимических маркеров костного ремоделирования позволяет оценить состояние метаболизма костной ткани, установить скорость обменных процессов, происхо-

дящих в ней, и, следовательно, темпы потери или прироста костной массы. В настоящее время используются три биохимических маркера формирования кости, которые синтезируются остеобластами: остеокальцин (ОК), костная щелочная фосфатаза (КЩФ) и аминокотерминальный пропептид про-

Статья поступила в редакцию 08.11.11 г.

**Контакты:** Ермакова Инна Петровна, д. м. н., ст. науч. сотрудник лабораторно-диагностического отделения.

Тел. 8 (499) 190 24 30, e-mail: lab\_transpl\_nii@mail.ru

коллагена 1-го типа (АТППК1). Каждый из этих маркеров имеет свои специфические характеристики метаболизма и отражает различные циклы процесса формирования новой кости. Так, по концентрации АТППК1 можно судить о скорости отложения коллагена как основы органического матрикса (остеоида). Концентрация ОК позволяет оценивать скорость отложения минеральной составляющей кости – гидроксиапатита, а КЩФ – переход его из аморфного состояния в кристаллическое [1, 2]. Клиническая интерпретация данных определения маркеров костного формирования может быть затруднена из-за различных факторов, влияющих на степень дифференциации и функциональную активность остеобластов. Так, отмечено, что при остеопорозе, вызванном длительным приемом глюкокортикоидов, наблюдается снижение ОК и нормальный уровень КЩФ. Эти различия обусловлены комбинацией двух противоположных влияний стероидов на остеобласты: уменьшение числа остеобластов и подавление синтеза ОК, с одной стороны, и усиление продукции КЩФ каждой клеткой – с другой [2].

У реципиентов после трансплантации печени (ОТП) большинство исследователей находят тесную связь между подавлением процесса формирования кости в ранние (от 3 до 6 месяцев) сроки после ОТП с приемом высоких доз глюкокортикоидов. Однако снижение дозы или полное исключение стероидов из схемы иммуносупрессивной терапии приводит к постепенному повышению в последующие месяцы только одного из маркеров формирования кости – остеокальцина, тогда как повышение костной щелочной фосфатазы менее выражено и наблюдается в более поздние (от 12 до 24 месяцев) сроки после ОТП [6, 10].

Другой проблемой при интерпретации данных биохимических маркеров формирования кости является их зависимость от тяжести и этиологии заболевания. Как показано некоторыми исследователями, при холестатических заболеваниях печени повышение уровня общей щелочной фосфатазы может затруднять оценку КЩФ [5], а увеличение коллагенизации на стадии цирроза печени – провоцировать существенное завышение значений АТППК1, не связанное с продукцией его остеобластами [7]. Однако в доступной нам литературе данных о влиянии сопутствующих клинических заболеваний и течения послеоперационного периода на возникновение нарушений костного обмена, и в частности процесса формирования кости, нами не обнаружено.

Целью настоящего исследования явилось установление информативной значимости трех биохимических маркеров формирования костной ткани у реципиентов после пересадки печени, а также выявление зависимости динамики их изменений от клинического статуса реципиента.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 34 реципиента (24 женщины и 10 мужчин) после ортотопической трансплантации печени (ОТП) в динамике дважды. Первое обследование выполнено в условиях стационара через 1–4 месяца после ОТП на фоне тщательного мониторинга и контроля клинико-инструментальных и лабораторных показателей (ультразвукового исследования трансплантата, определения концентрации иммуносупрессантов и биохимических, гематологических и вирусологических анализов крови, исследований сердечно-сосудистой системы, диагностики и профилактики инфекционных осложнений и т. д.). Второе обследование проведено через 5–18 месяцев после ОТП в амбулаторном режиме с соблюдением аналогичного алгоритма послеоперационного наблюдения.

В сыворотке крови, взятой утром натощак, определяли концентрации биохимических маркеров формирования – аминоконцевую и среднюю часть [1–43] молекулы остеокальцина (ОК), аминоконцевого пропептида проколлагена 1-го типа (АТППК1), костной фракции щелочной фосфатазы (КЩФ), а также концентрации общего билирубина, аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) аминоконцевых трансаминаз, гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ) и общей щелочной фосфатазы (ЩФ). ОК (норма 11–43 нг/мл) и АТППК1 (норма 16,3–73,9 нг/мл) определяли иммунохимическими методами на автоматическом анализаторе Elecsys 2010 фирмы Roche (Германия), КЩФ (норма 14–42 ед/л) – иммуноферментным методом набором фирмы GUIDEL (Германия) на анализаторе «Пикон» (Россия), общий билирубин (норма 5–20 мкмоль/л), АЛТ (норма 5–40 ед/л), АСТ (норма 5–40 ед/л), ГГТ (норма 11–49 ед/л) и ЩФ (норма 0–270 ед/л) – на автоматическом биохимическом анализаторе «Хитачи-912» (Германия).

У всех реципиентов измеряли минеральную плотность костной ткани (МПК) в области поясничных позвонков (L2–L4) методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DEXA) на денситометре фирмы LUNAR (США). Индивидуальные результаты определения МПК выражали как в абсолютных единицах (г/см<sup>2</sup>), так и в виде Т-критерия – кратности стандартных отклонений здоровых (SD) от пика костной массы.

Всем реципиентам интраоперационно до реперфузии печеночного трансплантата вводили 500 мг метилпреднизолона (Солу-Медрола). Основным препаратом протокола иммуносупрессивной терапии являлся ингибитор кальциневрина такролимус. В дальнейшем прием глюкокортикоидов и схема иммуносупрессивной терапии зависели от клинических показаний.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы SPSS 14.0 (США) с использованием корреляционной и вариационной статистики. Критический уровень значимости различия показателей принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 34 реципиентов при первом обследовании величины ОК, АТППК1 и КЩФ в среднем составили:  $43,2 \pm 44,9$ ,  $186 \pm 143$  нг/мл и  $25,7 \pm 10,1$  ед/л соответственно. Из трех маркеров существенно повышенными оказались АТППК1 – на 417% ( $p = 0,0001$ ) с диапазоном значений от 29 до 681 нг/мл и ОК – на 53% ( $p = 0,056$ ) с диапазоном изменения от 10 до 249 нг/мл, тогда как величины КЩФ в среднем практически не отличались от нормы. Анализ индивидуальных значений трех биохимических маркеров формирования кости показал большую вариабельность не только степени, но и направленности их отклонений от физиологической нормы, что вызвало необходимость формирования более однородных групп. Критерием для формирования групп выбран ОК, как маркер, который синтезируется только остеобластами, хорошо коррелирует с гистоморфологическими характеристиками скорости формирования кости и не зависит от функции печени, поскольку выводится из кровотока почками [1]. Группу 1 составили 10 реципиентов, у которых повы-

шенные значения ОК сочетались с повышенными значениями АТППК1, группу 2 – 9 реципиентов, у которых низкие или нормальные значения ОК сочетались с нормальными величинами АТППК1, и группу 3 – 15 реципиентов, у которых нормальные или низкие величины ОК сочетались со значительным увеличением АТППК1 (табл. 1).

## КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП И МИНЕРАЛЬНАЯ ПЛОТНОСТЬ КОСТИ

Из 10 реципиентов группы 1 (6 женщин и 4 мужчин) в возрасте от 18 до 55 лет (в среднем  $35,0 \pm 13,8$ ) у 3 цирроз печени развился в исходе хронического вирусного гепатита (HBV + HDV) и у 5 – аутоиммунных и холестатических диффузных заболеваний печени; у 1 – болезни Вильсона–Коновалова и у 1 – синдрома Бадда–Киари. Ранний послеоперационный период у всех реципиентов этой группы характеризовался быстрым восстановлением функции трансплантата с разрешением синдромов цитолиза и холестаза на 30-е сутки после ОТП (табл. 2), отсутствием послеоперационных хирургических осложнений и нарушений углеводного обмена. Суммарная доза метилпреднизолона на момент первого обследования в среднем составила  $1,08 \pm 0,4$  грамма. В дальнейшем глюкокортикоиды у 8 реципиентов были отменены. При втором обследовании, выполненном в сроки от 9 до 18 месяцев после ОТП, у всех реципиентов функция трансплантата

Таблица 1

**Динамика изменений биохимических маркеров костной ткани и минеральной плотности кости (МПК) у реципиентов трех групп (M ± sd)**

Группы	Обследование	ОК	АТППК1	КЩФ	МПК
1-я	1-е	$90,5 \pm 58,4^s$	$270 \pm 125^s$	$32,7 \pm 11,2$	$-2,75 \pm 1,34^s$
	2-е	$77,3 \pm 71,8$	$200 \pm 230^s$	$31,7 \pm 11,5$	$-1,40 \pm 1,46^s$
2-я	1-е	$11,8 \pm 2,0^{s*}$	$55 \pm 22^*$	$21,4 \pm 8,1^*$	$-2,01 \pm 1,36^s$
	2-е	$22,5 \pm 15,8$	$83 \pm 61^s$	$22,5 \pm 12,0$	$-1,90 \pm 1,35^s$
3-я	1-е	$30,5 \pm 12,3^{*+}$	$209 \pm 146^{s+}$	$23,9 \pm 8,7$	$-1,75 \pm 1,56^s$
	2-е	$34,4 \pm 18,2$	$111 \pm 79^{s#}$	$26,5 \pm 7,6$	$-1,31 \pm 1,14^s$

*Примечание.* <sup>s</sup> – различия достоверны по сравнению со здоровыми ( $p < 0,05$ ); \* – различия достоверны по сравнению с 1-й группой ( $p < 0,002$ ); + – различия достоверны по сравнению со 2-й группой ( $p < 0,001$ ); # – различия достоверны по сравнению с 1-м обследованием ( $p = 0,034$ ).

Таблица 2

**Динамика изменений биохимических маркеров цитолиза и холестаза у реципиентов трех групп (M ± sd)**

Группы	Обследование	АЛТ	АСТ	Билирубин	ГГТ	ЩФ
1-я	1-е	$21 \pm 10$	$22 \pm 7$	$18 \pm 8$	$92 \pm 107$	$274 \pm 152$
	2-е	$20 \pm 10$	$22 \pm 6$	$20 \pm 8$	$25 \pm 16$	$221 \pm 72$
2-я	1-е	$108 \pm 219$	$41 \pm 63$	$19 \pm 8$	$135 \pm 129$	$286 \pm 155$
	2-е	$68 \pm 102$	$43 \pm 43$	$22 \pm 10$	$103 \pm 173$	$514 \pm 659$
3-я	1-е	$76 \pm 103$	$54 \pm 64$	$24 \pm 22$	$125 \pm 94$	$269 \pm 117$
	2-е	$127 \pm 196$	$105 \pm 147$	$15 \pm 8$	$160 \pm 275$	$319 \pm 235$

оставалась стабильно удовлетворительной без развития побочных эффектов иммуносупрессивной терапии. Только у 1-го реципиента на 6-м месяце после ОТП развилось острое отторжение трансплантата умеренной степени, которое было купировано пульс-терапией стероидами, и к моменту второго обследования суммарная доза метилпреднизолона у него составила 4,9 грамма. Потери костной массы в области поясничных позвонков в исходном периоде наблюдались у всех реципиентов группы 1 (табл. 2). Снижение МПК до степени остеопороза со значениями Т-критерия в диапазоне от -5,0 до -2,8 было выявлено у 6 реципиентов, и до степени остеопении – у 4 реципиентов в диапазоне Т-критерия от -1,8 до -1,0. Через 9–18 месяцев после ОТП костные потери у 7 реципиентов имели менее выраженный характер (со значениями Т-критерия в диапазоне от -3,4 до -1,1), а у 2 реципиентов МПК находилась в пределах значений здоровых людей.

Из 9 реципиентов группы 2 (6 женщин и 3 мужчин) в возрасте от 22 до 57 лет (в среднем 43,6 ± 11,7) у 2 цирроз печени явился следствием хронического вирусного гепатита HCV и HBV + HDV, у 6 – аутоиммунных и/или холестатических диффузных заболеваний печени, у 1 – гепатита токсической этиологии. На момент первого обследования суммарная доза стероидов в среднем по группе составила 6,79 ± 14,4 грамма, поскольку двое реципиентов из этой группы длительное время получали преднизолон до пересадки печени, и его кумулятивная доза составила 7,30 и 44,5 грамма. Повторное обследование через 5–14 месяцев у 2 реципиентов было выполнено на фоне отмены стероидов, тогда как у 7 реципиентов метилпреднизолон входил в схему иммуносупрессивной терапии. При первом обследовании снижение МПК до степени остеопороза (Т-критерий от -3,9 до -2,6) выявлено у 4 и до степени остеопении (Т-критерий от -2,1 до -1,2) – у 3 реципиентов. У 2 реципиентов при первом обследовании МПК соответствовала физиологической норме (табл. 2). Через 5–14 месяцев после ОТП прирост костной массы (в среднем на 5,6 ± 2,2%) наблюдался у 5 реципиентов, тогда как у 4 реципиентов МПК снизилась (в среднем на -3,3 ± 3,0%). По данным ультразвукового исследования на момент первого обследования никаких нарушений функции трансплантата выявлено не было, однако у 4 реципиентов сохранялся синдром холестаза, и одной пациентке на 2-й день после ОТП потребовалось проведение альбуминового диализа (MARS-терапии) из-за развития дисфункции трансплантата. В дальнейшем, через 5 месяцев после ОТП, у нее наблюдалась стриктура билиодигестивного анастомоза, потребовавшая хирургического вмешательства, которое через 10 дней осложнилось массивным кровотечением и гибелью пациентки. К мо-

менту второго обследования у 3 реципиентов были выявлены нарушения углеводного обмена, которые в двух случаях потребовали применения инсулина и в одном – изменения схемы иммуносупрессивной терапии, и у 1 реципиента имел место рецидив хронического бактериального холангита с умеренной дисфункцией печеночного трансплантата. Один реципиент был обследован на фоне верифицированного морфологически острого отторжения трансплантата и проведения пульс-терапии стероидами (табл. 1).

Из 15 реципиентов группы 3 (12 женщин и 3 мужчин) в возрасте от 22 до 63 лет (в среднем 43,3 ± 12,6) у 4 цирроз печени наблюдался в исходе вирусного гепатита HCV, у 5 – первичного билиарного цирроза печени, у 2 – синдрома Бадда–Киари, у 2 – гепатоцеллюлярной карциномы, у 1 – болезни Вильсона–Коновалова и у 1 – цирроза токсической этиологии. При обследовании через 1–4 месяца после ОТП суммарная доза метилпреднизолона в среднем составила 2,26 ± 3,92 грамма. При повторном обследовании стероиды получали 8 реципиентов, и их суммарная доза составила 5,57 ± 5,62 грамма. Следует отметить, что один реципиент из этой группы до операции получил в суммарной дозе 14,4 грамма преднизолона и один реципиент из-за осложнений со стороны желчных путей на 7-м месяце после ОТП к моменту второго обследования получил 6,51 грамма стероидов. Индивидуальные данные денситометрического обследования и характеристика остеопатии реципиентов группы 3 представлены в табл. 3.

Таблица 3

**Индивидуальные значения минеральной плотности кости (Т-критерий), характеристика остеопатий и изменение МПК в процентах у реципиентов группы 3**

	МПК Т-критерий		Остеопатии		Изменение МПК, %
	1-е	2-е	1-е	2-е	
1	-0,20	0,40	норма	норма	+6,40
2	-2,60	-1,90	остеопороз	osteopenия	+8,72
3	-0,50	-1,10	норма	osteopenия	-6,35
4	-3,10	-2,20	остеопороз	osteopenия	+12,64
5	-4,60	-2,50	остеопороз	остеопороз	+36,90
6	-1,60	-2,00	osteopenия	osteopenия	-4,49
7	-0,40	0,60	норма	норма	+10,87
8	-4,90	-3,50	остеопороз	остеопороз	+27,61
9	-1,60	-1,00	osteopenия	osteopenия	+6,21
10	-1,00	-0,40	норма	норма	+5,51
11	-1,00	-1,10	норма	osteopenия	-1,48
12	0,50	-0,10	норма	норма	-5,89
13	-2,30	-2,50	osteopenия	остеопороз	-2,59
14	-0,70	-1,10	норма	osteopenия	-4,57
15	-2,30	-1,20	osteopenия	osteopenия	+14,32



При оценке клинического статуса реципиентов данной группы в раннем послеоперационном периоде выявлены различные виды осложнений, частично обусловленные или состоянием пациента перед операцией, или эпизодами острого отторжения с дисфункцией трансплантата, потребовавшей проведения сеансов MARS-терапии, или развитием посттрансплантационного диабета, или токсичностью препаратов иммуносупрессии. На момент первого обследования практически у всех наблюдалось повышение ферментов цитолиза и холестаза. Между первым и вторым обследованием у трех реципиентов отмечены признаки отторжения трансплантата и у трех реципиентов – атравматические переломы лучезапястных суставов и шейки плечевой кости. К моменту второго обследования у 10 реципиентов отмечена полная нормализация ферментов цитолиза и холестаза, тогда как у 5 реципиентов эти показатели все еще были выше нормальных величин. Причинами ферментопатии являлись: возврат основного заболевания, высокая вирусная нагрузка, осложнения в виде рецидивирующего холангита. Детальный анализ клинической характеристики реципиентов группы 3 представлен в табл. 4.

### БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ФОРМИРОВАНИЯ КОСТИ

Как видно из табл. 1, через 1–3 месяца после ОТП у реципиентов группы 1 из трех маркеров формирования костной ткани достоверно повышенными оказались ОК и АТППК1 ( $p = 0,008$  и  $p = 0,0001$ ). При этом повышение ОК составило 221%, а увеличение АТППК1 превысило уровень нормы на 650%. Высокие значения КЩФ наблюдались у 2 реципиентов, тогда как у остальных величины этого показателя не отличались от физиологической нормы. При повторном обследовании через 9–18 месяцев после ОТП у 7 реципиентов данной группы наблюдалось снижение ОК в среднем на 41,2% и АТППК1 – на 54,2%. При анализе изменения концентраций трех маркеров полное восстановление процесса формирования кости отмечено у трех реципиентов, тогда как у остальных 4 реципиентов ОК и АТППК1 все еще оставались выше нормы. Вместе с тем у одного реципиента через 9 месяцев после ОТП было отмечено дальнейшее повышение ОК со 154 до 245 нг/мл, превышающее уровень физиологической нормы более чем в 6 раз, что наряду с высокими

Таблица 4

**Клинический статус и индивидуальные показатели цитолиза и холестаза у реципиентов группы 3**

	Диагноз	Сроки первого обследования, мес.	Возраст, годы	Метил-преднизолон, г		АЛТ, Ед/л		АСТ, Ед/л		Билирубин, Ед/л		ГГТ, Ед/л		ЩФ, Ед/л		Криз, мес.	Диабет	Переломы
				1-е	2-е	1-е	2-е	1-е	2-е	1-е	2-е	1-е	2-е	1-е	2-е			
1	1	1	37	1,17	2,65	15	14	9	17	26,2	6,0	<b>91</b>	24	239	282			
2	2	4	43	1,50	–	<b>396</b>	<b>336</b>	<b>235</b>	<b>378</b>	29,8	26,8	<b>376</b>	<b>338</b>	231	306	2		+
3	2	1	41	1,52	–	30	91	31	93	17,9	16,1	<b>115</b>	<b>337</b>	<b>365</b>	<b>817</b>		+	
4	2	1	45	2,38	–	21	<b>196</b>	26	<b>131</b>	19,0	19,4	<b>191</b>	<b>129</b>	303	299	6	+	
5	3	1	57	0,87	1,24	57	32	45	17	<b>98,2</b>	14,7	<b>287</b>	48	<b>581</b>	102			
6	3	1	47	0,73	2,98	47	33	19	19	13,3	7,7	48	53	126	167			
7	3	1	36	1,23	3,95	21	18	12	13	15,1	8,8	67	35	260	292	1		
8	3	1	49	1,03	2,05	14	12	15	14	7,3	10,2	48	15	319	277			
9	3	2	44	16,09	18,6	65	14	66	28	<b>45,0</b>	13,9	<b>112</b>	45	<b>382</b>	190		+	
10	4	1	34	0,75	–	16	23	14	19	13,9	17,6	<b>95</b>	30	198	175	4		+
11	4	1	22	3,90	5,88	<b>99</b>	<b>332</b>	36	<b>362</b>	8,7	21,3	69	<b>121</b>	117	322		+	
12	5	2	50	0,75	–	22	25	30	25	9,8	10,5	40	36	133	168	1		
13	5	2	63	0,75	–	15	44	28	30	17,2	8,1	<b>111</b>	18	256	258		+	+
14	6	1	16	0,75	7,26	<b>107</b>	<b>708</b>	<b>72</b>	<b>406</b>	33,3	<b>36,9</b>	<b>138</b>	<b>1081</b>	270	<b>887</b>	8		
15	2	1	55	0,50		<b>218</b>	22	<b>168</b>	23	13,4	16,4	81	84	262	217			

*Примечание.* Основное заболевание печени в исходе: 1 – токсической этиологии; 2 – вирусных гепатитов; 3 – первичного билиарного цирроза; 4 – синдрома Бадда–Киари; 5 – гепатоцеллюлярной карциномы; 6 – болезни Вильсона–Коновалова.

значениями АТППК1 (739 нг/мл) могло свидетельствовать об избыточном накоплении неминерализованного остеоида, как это наблюдается при остеомалиции. Выявленные отклонения явились основанием для назначения реципиенту препаратов кальция и метаболита витамина D<sub>3</sub>. Через 21 месяц после ОТП было отмечено снижение всех трех маркеров формирования кости до уровня возрастной нормы, которое сочеталось с высоким темпом восстановления костных потерь. Прирост МПК по сравнению с исходными значениями составил 38,6%, и абсолютные значения МПК, которые в исходном периоде были снижены до степени остеопороза, вошли в диапазон физиологической нормы.

У реципиентов группы 2 через 1 месяц после ОТП достоверное (p = 0,0001) снижение ОК по сравнению со здоровыми сочеталось с нормальными значениями АТППК1. Величины КЩФ у 3 реципиентов были понижены, тогда как у 6 остальных – нормальными. По всем трем показателям выявлены достоверные (p = 0,001) различия между реципиентами группы 1 и группы 2. Повышение ОК на 99,6–387,3% при втором обследовании наблюдалось у 4 реципиентов, тогда как у 4 величины ОК по сравнению с первым обследованием не изменились (табл. 1). АТППК1 повысился (на 90,3– 265,9%) у 4 реципиентов, снизился у 2 – на 39,1 и 73,5% – и не изменился у 3 реципиентов. Повышение АТППК1 у 3 реципиентов сочеталось с увеличением ОК, тогда как у пациентки с выраженным синдромом холестаза из-за стриктуры анастомоза отмечено изолированное увеличение АТППК1 с 72 до 163 нг/мл на фоне снижения ОК с 15 до 9 нг/мл. Анализ изменения КЩФ проводился у 7 реципиентов. Величины КЩФ 2 реципиентов были исключены из анали-

за, поскольку высокие концентрации общей щелочной фосфатазы в крови (1617 и 1711 ед/л) являются ограничением данного метода. Из 7 реципиентов группы 2 только у одного выявлено снижение КЩФ на 75,4%, тогда как у 4 наблюдалось повышение на 160 ± 83% и у 2 величины КЩФ не отличались от данных при первом обследовании.

При обследовании через 1 месяц после ОТП у реципиентов группы 3 отмечены разнонаправленные отклонения анализируемых маркеров формирования кости. Если значения ОК и КЩФ в среднем не отличались от величин здоровых людей, то уровень АТППК1 у всех реципиентов данной группы был выше нормы (p = 0,0001) и в некоторых случаях превышал ее более чем в 5 раз. При повторном обследовании величины АТППК1 снизились у 12 реципиентов, и у 6 из них уменьшение АТППК1 сочеталось с увеличением ОК. У 3 реципиентов наблюдалось дальнейшее повышение АТППК1. Индивидуальные данные ОК, АТППК1 и КЩФ при первом и втором обследованиях представлены в табл. 5.

Таким образом, при анализе полученных данных в раннем периоде после ОТП выявлены три типа отклонений биохимических маркеров формирования кости. Первый тип отклонений, когда высокие значения ОК сочетались с повышенными концентрациями АТППК1 в крови, был характерен для раннего восстановления функции трансплантата при отсутствии в послеоперационном периоде выраженных клинических осложнений. Высокая интенсивность костного обмена, выявленная через 1–3 месяца после ОТП, по-видимому, была предиктором значимого (в среднем на 15,4 ± 12,4%) увеличения минеральной плотности поясничных позвонков у всех реципиентов. При втором обследовании были вы-

Таблица 5

**Индивидуальные данные биохимических маркеров формирования кости и клинические осложнения реципиентов группы 3**

	ОК		АТППК1		КЩФ		Клиническое течение (в период между 1-м и 2-м обследованием)
	1-е	2-е	1-е	2-е	1-е	2-е	
1	24,93	37,76	<b>277,60</b>	147,50	22,89	27,06	Токсичность иммуносупрессии
2	48,16	11,23	<b>220,60</b>	58,06	44,98	30,52	Высокая вирусная нагрузка
3	36,07	47,40	<b>171,70</b>	<b>213,10</b>	19,07	–	Дисфункция трансплантата
4	34,04	72,31	<b>681,30</b>	286,50	39,98	21,34	Дисфункция трансплантата
5	40,21	16,93	<b>224,60</b>	17,21	–	20,60	Дисфункция трансплантата
6	28,60	18,10	<b>137,40</b>	23,16	13,67	17,20	Прием бисфосфонатов
7	48,33	57,07	<b>81,47</b>	<b>167,00</b>	18,66	45,40	Возврат основного заболевания
8	30,44	52,50	<b>177,60</b>	118,90	20,40	25,10	Диффузные изменения паренхимы печени
9	13,55	28,63	<b>95,96</b>	57,69	24,70	31,41	Прием преднизолона до ОТП
10	36,84	31,74	<b>152,30</b>	100,40	19,99	23,70	Коагулопатия
11	13,44	27,70	<b>83,64</b>	<b>165,10</b>	17,40	20,30	Лечение варфарином, возврат основного заболевания
12	46,81	25,26	<b>130,00</b>	50,82	29,44	28,52	Изменение схемы иммуносупрессии
13	16,49	48,93	<b>302,30</b>	175,00	21,30	33,43	Гипотиреоз
14	18,00	8,27	<b>169,20</b>	35,05	23,86	–	Большая суммарная доза метилпреднизолона
15	22,35	32,77	<b>225,20</b>	51,03	18,67	20,40	Высокая вирусная нагрузка

явлены прямые корреляции между маркерами костного формирования ОК и АТППК1 ( $r = 0,982$ ;  $p = 0,0001$ ), ОК и КЩФ ( $r = 0,772$ ;  $p = 0,025$ ), АТППК1 и КЩФ ( $r = 0,720$ ;  $p = 0,044$ ), а также тесная взаимосвязь между КЩФ и МПК в области L2–L4 ( $r = 0,795$ ;  $p = 0,033$ ), что может служить подтверждением не только активации функции остеобластов, но и восстановления качества кости.

Второй тип отклонений характеризовался сниженными или нормальными концентрациями ОК и КЩФ, тогда как АТППК1 был или нормальным, или слегка повышенным. Подавление функции остеобластов частично можно объяснить необходимостью длительного приема стероидов у 2 реципиентов и нарушением углеводного обмена у одного реципиента, которые имели место до операции. Вместе с тем через 9–14 месяцев после ОТП у 4 реципиентов наблюдались признаки восстановления костного обмена, а положительная динамика изменения МПК как интегральный показатель процесса ремоделирования костной ткани отмечена у 7 реципиентов. При втором обследовании выявлены прямые корреляции между ОК и КЩФ ( $r = 0,823$ ;  $p = 0,023$ ) и АТППК1 и КЩФ ( $r = 0,913$ ;  $p = 0,004$ ), однако взаимосвязи между изменением маркеров формирования и МПК отмечено не было. Среди факторов, препятствующих нормализации процессов формирования кости, следует отметить развитие холестатического синдрома и применение высоких доз глюкокортикоидов.

Впервые отмеченный нами третий тип отклонения отражал различную степень выраженности маркеров формирования с изолированным увеличением только АТППК1. Поскольку известно, что каждый из маркеров отражает разные функции остеобластов, можно было предположить, что активация такой функции, как синтез проколлагена 1-го типа, является специфической особенностью раннего послеоперационного периода. Однако анализ литературных данных показал, что синтез проколлагена 1-го типа осуществляется не только остеобластами, но и многими другими тканями, такими как печень, кожа и сухожилия [9]. Отмечено, что содержание АТППК1 в печени ассоциируется с тяжестью заболевания и у больных терминальной стадией цирроза печени концентрация АТППК1 в сыворотке крови в 6 раз больше, чем у здоровых людей [11]. Ведущую роль в развитии фиброзирующей регенерации отводят клеткам Ито, которые при стрессорном повреждении печени активизируют отложение фибриллярных коллагенов 1, 3 и 5-го типов и инактивируют тканевые металлопротеиназы [3, 12]. Следовательно, отсроченное восстановление функции трансплантата и развитие послеоперационных осложнений могли явиться причиной выработки фибробластами печени неспецифических коллагенов,

и в частности проколлагена 1-го типа, как это было отмечено у больных с хроническими заболеваниями печени [11]. Выявленное сочетание между функциональным состоянием печени и АТППК1, с одной стороны, и расхождение динамики изменений АТППК1 и ОК – с другой – могут быть использованы в качестве контроля за развитием осложнений у реципиентов после пересадки печени.

## ВЫВОДЫ

1. В ранние сроки после ОТП изменения трех биохимических маркеров формирования кости отличаются значительной вариабельностью и разнонаправленностью. По характеру и степени изменения анализируемых показателей можно выделить три типа отклонений: сочетание высоких значений ОК и АТППК1 при нормальных величинах КЩФ, сочетание низких значений ОК и КЩФ и нормальных концентраций АТППК1, изолированное увеличение АТППК1 на фоне нормальных значений ОК и КЩФ.
2. Концентрацию ОК в сыворотке крови после ОТП следует считать наиболее информативным показателем оценки процесса формирования костной ткани, поскольку его продукция и синтез остеобластами не зависят от функционального состояния печеночного трансплантата. Низкие значения ОК, АТППК1 и КЩФ ассоциируются с подавлением функции остеобластов высокими дозами стероидов, которые по клиническим показаниям больные получали в исходном периоде и/или после пересадки печени.
3. Высокие концентрации АТППК1 при нормальных и даже сниженных значениях ОК и КЩФ не являются следствием только активации остеобластической функции, а отражают два параллельных процесса: продукцию и синтез его остеобластами и избыточное отложение фибриллярных матриксных коллагенов, и в частности коллагена 1-го типа, при репаративной регенерации печени на фоне отсроченного восстановления функции трансплантата.
4. В отдаленные сроки после ОТП отсутствие клинических осложнений, исключение из схемы иммуносупрессивной терапии стероидов, нормализация показателей цитолиза и холестаза являются факторами, способствующими восстановлению метаболических нарушений костной ткани и увеличению минеральной плотности кости.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ермакова И.П., Пронченко И.А. Биохимические маркеры костного обмена. Биохимические, аналитиче-

- ские и клинические аспекты использования: Руководство по остеопорозу. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2003. С. 168–181.
2. *Ермакова И.П., Пронченко И.А.* Современные биохимические маркеры в диагностике остеопороза // Остеопороз и остеопатии. 1998. № 1. С. 24–26.
  3. *Людун А.В., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Шагидулин М.Ю.* О роли синусоидальных клеток печени и клеток костного мозга в обеспечении регенераторной стратегии здоровой и поврежденной печени // Вестник трансплантол. и искусств. органов. 2010. № 1. С. 78–85.
  4. *Crosbie O.M., Freaney R., McKenna M.J. et al.* Predicting bone loss following orthotopic liver transplantation // Gut. 1999. Vol. 44. P. 430–434.
  5. *Crosbie O.M., Freaney R., McKenna M.J. et al.* Bone density, vitamin D status and disordered bone remodeling in end-stage chronic liver disease // Calcif. Tissue Intern. 1999. Vol. 64. P. 295–300.
  6. *Giannini S., Nobile M., Ciuffreda M. et al.* Long-term persistence of low bone density in orthotopic liver transplantation // Osteoporos Int. 2000. Vol. 11. P. 417–424.
  7. *Guanabens N., Pares A., Alvarez L. et al.* Collagen-related markers of bone turnover reflect the severity liver fibrosis in patients with primary biliary cirrhosis // J. Bone Miner Res. 1998. Vol. 13. P. 731–738.
  8. *Monegal A., Navasa M., Guanabens N. et al.* Osteoporosis and bone mineral metabolism disorders in cirrhotic patients referred for liver transplantation // Calcif. Tissue Intern. 1997. Vol. 60 P. 148–154.
  9. *Pajala A., Melkko J., Leppilahti J. et al.* Tenascin-C and type 1 and 111 collagen expression in total Achilles tendon rupture. An immunohistochemical study // Histol. Histopathol. 2009. Vol. 24. P. 1207–1211.
  10. *Rabinovitz M., Shapiro J., Lian J. et al.* Vitamin D and osteocalcin levels in liver transplantant recipients: is osteocalcin a reliable marker of bone turnover in such cases? // J. of Hepatology. 1992. Vol. 16. P. 50–55.
  11. *Trinchet J-C., Hartmann D.J., Paterson D. et al.* Serum type 1 collagen and N-terminal peptide 111 procollagen in patients with alcoholic liver disease: relationship to liver histology // Alcoholism: Clinical and experimental research. 1992. Vol. 15. P. 342–346.
  12. *Viedal S.S., Vassiliadis E., Bay-Jensen A.C. et al.* Procollagen type 1N-terminal propeptide (P1NP) is a marker for fibrogenesis in bile duct ligation-induced fibrosis in rats // Fibrogenesis&Tissue Repair. 2010. Vol. 3. P. 5–12.

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ МЕМБРАННОЙ ОКСИГЕНАЦИИ В ДОНОРСТВЕ ОРГАНОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Минина М.Г.<sup>3</sup>, Хубутия М.Ш.<sup>1</sup>, Губарев К.К.<sup>4</sup>, Гуляев В.А.<sup>1</sup>, Пинчук А.В.<sup>1</sup>,  
Каабак М.М.<sup>2</sup>, Дабасамбуева Б.В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы

<sup>2</sup> Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского РАМН

<sup>3</sup> Кафедра трансплантологии и искусственных органов Московского государственного медико-стоматологического университета МЗиСР РФ

<sup>4</sup> Московский координационный центр органного донорства Департамента здравоохранения города Москвы

В России пул эффективных доноров с небьющимся сердцем (ДНС) составляет более 50% от общего пула эффективных доноров. Как известно, такие доноры являются преимущественно донорами почек. Наиболее часто для эксплантации почек у ДНС используется перфузия *in situ* через двухбаллонный трехпросветный катетер. Частота отсроченной функции почечных трансплантатов составляет при таком методе, по разным данным, от 48 до 78,4%. Использование технологии экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) у ДНС позволяет значительно снизить частоту отсроченной функции почечных трансплантатов, а также при соблюдении ряда условий выполнять у ДНС мультиорганную эксплантацию. В статье представлен первый опыт Москвы в использовании технологии ЭКМО в донорстве органов.

*Ключевые слова:* доноры с небьющимся сердцем, экстракорпоральная мембранная оксигенация.

## PRACTICAL USE OF EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION IN ORGAN DONATION FOR TRANSPLANTATION

Minina M.G.<sup>3</sup>, Khubutia M.Sh.<sup>1</sup>, Gubarev K.K., Gulyaev V.A.<sup>1</sup>, Pinchuk A.V.<sup>1</sup>,  
Kaabak M.M.<sup>2</sup>, Dabasambueva B.V.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Sklifasovsky Research Institute of Emergency Medicine (Moscow Department of Health)

<sup>2</sup> Russian Research Center of Surgery named by B. Petrovsky

<sup>3</sup> Department of Transplantology and Artificial Organs of Moscow State University of Medicine and Dentistry

<sup>4</sup> Moscow Coordinating Center of Organ Donation (Moscow Department of Health)

In Russia more than 50% of effective donors are non – heartbeating donors. As we all know, they appear mainly as the source of kidney transplants. The perfusion *in situ* through DBTL catheter is the most frequent technique usable. The rate of delayed graft function (DGF) following the DBTL perfusion may vary from 48 to 78,4%. ECMO technology use in organ donation may lead to dramatic decrease in DGF and create premises for multi-organ explantation. In the following paper we present the first Moscow experience of ECMO use in our practice of organ donation.

*Key words:* non-heartbeating donors, extracorporation membrane oxigenation.

Статья поступила в редакцию 13.01.12 г.

**Контакты:** Минина Марина Геннадиевна, к. м. н., руководитель Московского координационного центра органного донорства.  
Тел. 8 903 581 00 41, e-mail: minmar50@yahoo.com

## ВВЕДЕНИЕ

Экстракорпоральная мембранная оксигенация (ЭКМО) – инвазивный метод, используемый в лечении пациентов с тяжелой, но потенциально обратимой легочной и (или) сердечной недостаточностью.

В 1972 г. Hill, O’Brian впервые представили случай успешного использования ЭКМО в клинической практике у взрослых. В 1975 г. Bartlett сообщил о первом успешном случае использования ЭКМО в педиатрической практике [2, 3].

На рис. 1 представлен контур ЭКМО, используемый в педиатрической практике в госпитале Freeman (Лондон, Великобритания) в период с 1994-го по 2010 г. Обращает на себя внимание небольшое число компонентов, составляющих общий контур ЭКМО, в сравнении со стандартным контуром, используемым для обеспечения искусственного кровообращения при операциях на открытом сердце. Основными компонентами контура ЭКМО являются роликовый насос, мембранный оксигенатор, водяной терморегулятор и система специальных ПВХ-трубок, соединяющих данные элементы между собой. Принцип работы ЭКМО отвечает тем первичным целям и задачам, ради которых метод стал использоваться в клинической практике, а именно – экстракорпоральная оксигенация крови, позволяющая «разгрузить» собственные легкие и (или) сердце пациента и дать им возможность восстановиться от повреждений, вызванных тем или иным патологическим состоянием (респираторный дистресс-синдром взрослых и новорожденных, дыхательная недостаточность новорожденных и т. д.).

Венозная кровь поступает от пациента вследствие генерации отрицательного давления в контуре любым типом насоса (роликовым или центрифужным) и проходит через оксигенатор, где она насыщается кислородом, и уже оксигенированная кровь активным путем нагнетается в артериальное русло пациента.

ЭКМО, которая, по сути, «протезирует» легочную, газообменную и сердечную насосную функции, широко используется в медицине критических состояний, и спектр ее применения в этой области насчитывает более 26 нозологий, кроме того, ЭКМО используется в трансплантологии при трансплантации легких как «мост» при ожидании трансплантата, а в последние годы все активнее стали появляться сообщения об использовании ЭКМО в процессе донорства органов для трансплантации [2].

## ЗАРУБЕЖНЫЙ ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКМО В ПРОЦЕССЕ ДОНОРСТВА ОРГАНОВ

Первые публикации, раскрывающие начальный опыт использования технологии ЭКМО в до-

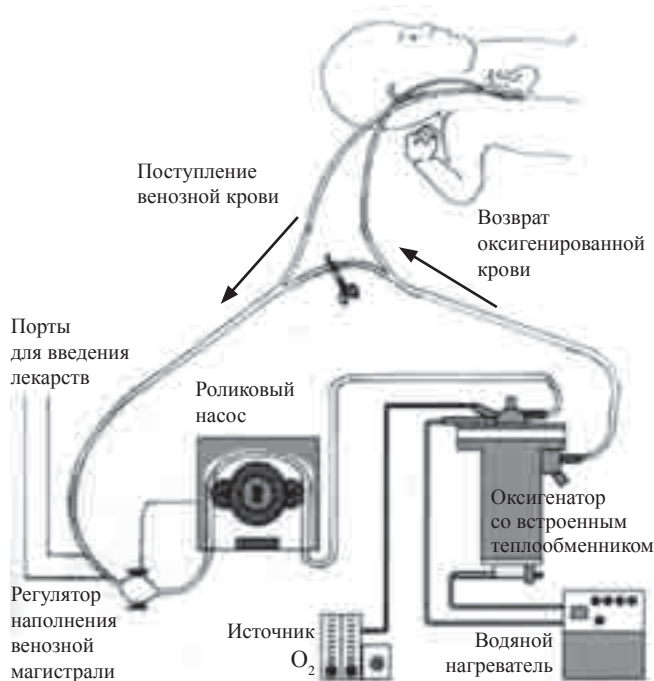


Рис. 1. Общий вид контура ЭКМО и его компонентов, используемого госпиталем Freeman в период 1994–2010 гг.

норстве органов для трансплантации, принадлежат группе авторов из Испании [3]. В 1986 г. отдел трансплантационной координации в Hospital Clinic de Barcelona начал реализацию программы по изъятию почек у доноров с небьющимся сердцем – ДНС. Техника изъятия была стандартной, с использованием перфузии *in situ* через аортальный двухбаллонный катетер. Тем не менее доля донорских почек с отсроченной функцией почечного трансплантата (ОФПТ) была достаточно высокой. В конце 90-х годов для минимизации повреждений, получаемых донорскими почками в результате тепловой ишемии, эта же группа авторов стала использовать метод тотального охлаждения тела донора путем подключения к аппарату искусственного кровообращения (АИК). Результат был парадоксальным, поскольку вопреки ожиданиям авторов доля донорских почек с ОФПТ выросла до 75% против 55 при использовании перфузии *in situ*. Следующим шагом исследовательской группы из Барселоны стало использование экстракорпоральной перфузионной технологии, но в условиях нормотермии, т. е. тело донора не охлаждалось, а, напротив, нагревалось до 37 °С. Результаты оказались ошеломляющими. Среди 8 донорских почек, изъятых в условиях искусственного кровообращения с нормотермией, лишь одна имела отсроченную функцию, при этом длительность восстановления функции почечного трансплантата сократилась в 3,2 раза по сравнению с техникой перфузии *in situ* и в 2 раза по сравнению с технологией тотального охлаждения тела донора.

Несколько позднее коллег из Испании группа исследователей из Университета штата Мичиган и Университета Висконсина (США) во главе с J.F. Magliossa начала использование в клинической практике экстракорпоральной перфузии ДНС в условиях нормотермии [4]. Ключевой целью начала новой донорской программы явилась необходимость расширения донорского пула путем активного использования доноров после остановки кровообращения в условиях, которые бы минимизировали повреждения органов вследствие тепловой ишемии. Кроме того, авторы еще до начала реализации проекта озвучили достаточно амбициозную гипотезу о том, что органы, изъятые в условиях ЭКМО, будут сопоставимы по показателям функциональности с органами, полученными от доноров со смертностью мозга. Донорский протокол ЭКМО, используемый в Мичигане, заслуживает внимания тем, что все доноры, составившие исследуемую группу, по классификации Maastricht относились к классу III, т. е. контролируемые доноры, в то время как в Барселоне ЭКМО-перфузия выполнялась у всех классов ДНС по Maastricht, кроме класса III. Разница в длительности тепловой ишемии была значительной, но при этом результаты трансплантации вполне сопоставимы (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели функции почечных трансплантатов, полученных после использования технологии ЭКМО**

Показатели	Данные исследовательской группы из Барселоны	Данные исследовательской группы из Мичигана
Количество почек, пересаженных после применения технологии ЭКМО	8	24
Немедленная функция	7 (87,5%)	22 (91,7%)
Отсроченная функция	1 (12,5%)	2 (8,3%)
Первично не функционирующие трансплантаты	0	0
Длительность отсроченной функции, дни	6,3 ± 3,1	7

Пристального внимания заслуживает возможность использования ЭКМО-технологии при изъятии экстраренальных органов у ДНС. В зарубежной литературе мы встретили практический опыт использования ЭКМО при изъятии печени у ДНС под авторством уже упомянутой в этой статье исследовательской группы из Мичигана, а также у группы из Барселоны, но с другим авторским составом [5].

Кроме того, группа из Мичигана представила данные и по изъятию поджелудочной железы с использованием ЭКМО у ДНС. Опыт исследователей из США в изъятии экстраренальных органов составил 7 печеночных трансплантатов и 1 трансплантат поджелудочной железы. Авторы ограничились лишь тем, что указали общее количество экстраренальных органов и отсутствие каких-либо осложнений, включая первично не функционирующий трансплантат в ближайшем послеоперационном периоде. Статья из Барселоны более детализирована и фактически посвящена разработке и успешному клиническому использованию нового протокола изъятия донорской печени в условиях ЭКМО.

До публикации испанских данных опыт трансплантации печени, полученной от ДНС, был достаточно ограниченным. Фактором, ограничивающим данный вид трансплантации печени, является повышенный риск развития таких грозных осложнений, как первично не функционирующий трансплантат, ишемическая холангиопатия, тромбоз печеночной артерии. Все работы, которые выходили в свет до представления испанского опыта, имели отношение к контролируемым донорам, и лишь две работы были посвящены изъятию печени у неконтролируемых доноров [7, 8]. Casavilla, Ramirez, Shapiro et al. продемонстрировали опыт работы с 6 неконтролируемыми донорами, от которых были пересажены 6 печеночных трансплантатов. В ближайшем послеоперационном периоде 5 печеночных трансплантатов были потеряны, соответственно, выживаемость трансплантатов составила 17%. В более поздней публикации испанских авторов Otero, Gomez-Gutierrez, Suarez et al. был представлен опыт работы с 20 неконтролируемыми донорами, при этом выживаемость трансплантатов была выше и составила 55%. Среди основных причин невысокой выживаемости печеночных трансплантатов называются те технические средства и методы, использовавшиеся при работе с донором, которые в итоге не смогли адекватным образом защитить печень донора от ишемического повреждения.

В 1997 г. группа авторов из Испании – Fondevila, Hessheimer, Ruiz, Calatayud et al. – опубликовала первые результаты исследования о влиянии нормотермической перфузии на ишемические повреждения свиной печени, полученные в результате тепловой ишемии в экспериментальных условиях. Данное исследование показало, что нормотермическая ЭКМО может частично восстановить энергетические запасы на клеточном уровне, утраченные в процессе остановки кровообращения у донора. На основании данной экспериментальной работы Клинический госпиталь в Барселоне в 2002 г. разработал и внедрил в клиническую практику протокол изъятия печени у доноров с небыющим сердцем

Таблица 2

**Критерии пригодности печени у доноров с небыющим сердцем в условиях ЭКМО**

	Остановка кровообращения	Реанимационные мероприятия	Нормотермическая ЭКМО	Холодовая перфузия
Время	Не более 15 мин	Не более 150 мин	Не более 4 часов	Критерии качества холодной перфузии такие же, как и при стандартном изъятии при перфузии <i>in situ</i>
Донор	Не более 65 лет без абсолютных противопоказаний к донорству		Первичные АСАТ и АЛАТ не более 3 норм (по верхней границе нормы). Финальные АСАТ и АЛАТ не более 4 норм. Объемный кровоток не менее 1,7 л/мин, рН на уровне 7,0–7,4	

в условиях нормотермической ЭКМО. Кроме того, были разработаны критерии пригодности таких печеночных трансплантатов для пересадки.

На отдельных моментах испанского протокола считаем необходимым остановиться в данной статье.

Работа велась с категориями доноров по Маастрихту I, т. е. остановка кровообращения происходила во внегоспитальных условиях. Примечательно, что для отбора потенциальных доноров для ЭКМО необходимо было точно знать время остановки кровообращения. Далее потенциальный донор доставлялся в госпиталь, при этом и во время транспортировки, и в госпитале непрямой массаж сердца и искусственная вентиляция продолжались. О поступлении потенциального донора данной категории информировался трансплантационный координатор, и после констатации смерти начинались подготовительные этапы для подключения контура ЭКМО. После подключения нормотермической ЭКМО производились анализы крови донора – общий анализ, биохимические показатели, показатели газового состава крови и электролитов. Принципиально важным для возможного изъятия печени считалось поддержание перфузионного объема крови в контуре на уровне 1,7 л/мин, при условии что торакальные органы и головной мозг не перфузируются.

Критерии пригодности печени у доноров с небыющим сердцем в условиях ЭКМО представлены в табл. 2.

Примечательно, что из 10 доноров, у которых была изъята печень для трансплантации в условиях ЭКМО, 5 умерли от острых нарушений ритма сердца, 4 – от острого инфаркта миокарда и 1 – от травмы, полученной при дорожно-транспортном происшествии.

Результаты пересадки 10 печеночных трансплантатов, полученных в условиях ЭКМО, распределились следующим образом: 5 реципиентов живы и

имеют хорошую функцию трансплантата (срок наблюдения 23 месяца), один трансплантат был потерян в результате его первичного нефункционирования в течение 1-го месяца, и еще один трансплантат был потерян в результате тромбоза печеночной артерии. Оба реципиента имели успешную ретрансплантацию. Первичное нефункционирование трансплантата авторы объясняют длительными реанимационными мероприятиями, более 155 мин. Кроме того, после 70 мин ЭКМО произошла техническая поломка в нагревателе крови в контуре и донор подвергся 95-минутному периоду гипотермии. Три реципиента умерли с функционирующими трансплантатами вследствие причин, не связанных с качеством трансплантатов.

Приведенный опыт убедительно демонстрирует достаточно широкие возможности ЭКМО в изъятии не только почечных трансплантатов с минимальным ишемическим повреждением, но и экстраренальных органов брюшной полости, что значительно увеличивает пул потенциальных доноров для мультиорганного изъятия.

Данный опыт особенно актуален для России, поскольку количество доноров с констатированной смертью головного мозга остается небольшим и число реципиентов в листах ожидания на трансплантацию экстраренальных органов неуклонно растет.

**СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКМО В ДОНОРСТВЕ ОРГАНОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ**

Мы начали использование ЭКМО с целью изъятия донорских органов для трансплантации в апреле 2010 г. На момент написания данной статьи наш опыт представлен 11 случаями использования ЭКМО у ДНС. Состав, технические характеристики и практическое использование контура ЭКМО представлены ниже (рис. 2–4).



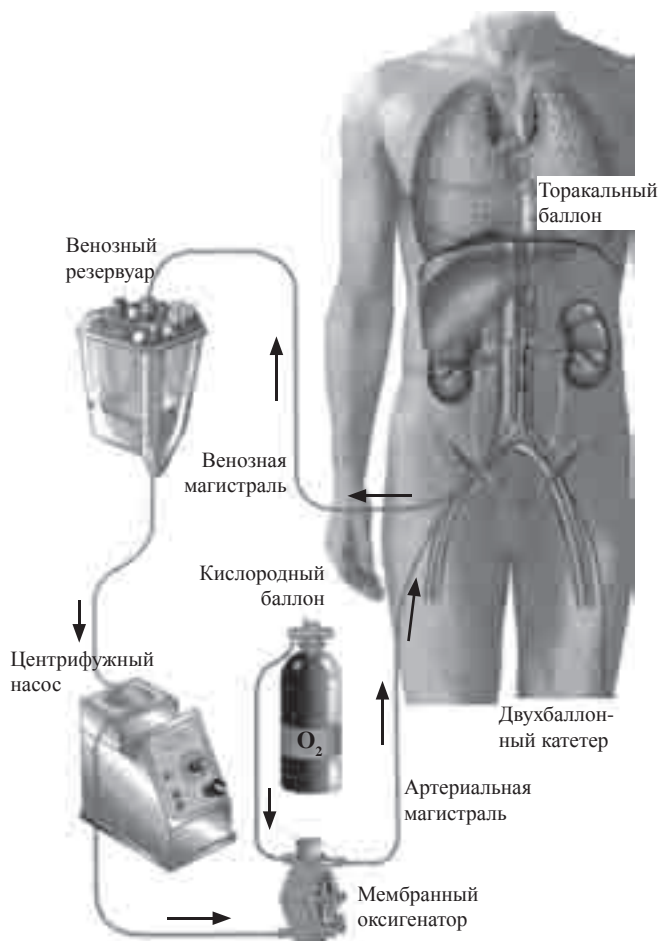


Рис. 2. Контур ЭКМО в работе

### Состав и технические характеристики контура ЭКМО

1. Центрифужный портативный насос «Рота Флоу» (Maquet, Германия).
2. Головка центрифужного насоса «Рота Флоу» (Maquet, Германия).
3. Венозная канюля для экстракорпоральной перфузии, армированная (Maquet, Германия) – 30 Fr.
4. Артериальная канюля для экстракорпоральной перфузии, армированная (Maquet, Германия) – 18 Fr.
5. Магистралы для экстракорпоральной перфузии диаметром 3/8 (Maquet, Германия).
6. Оксигенатор QUADROX-i для взрослых (Maquet, Германия).
7. Венозный резервуар VHK 2000 (Maquet, Германия).
8. Баллон для кислорода с вентилем, объем 2 л.

### Методология процедуры ЭКМО

После констатации смерти пациента вследствие необратимой остановки сердечной деятельности одновременно двумя хирургами выполняются продольные разрезы в проекции бедренных сосудов. С одной стороны выполняется канюляция бедренной артерии и вены канюлями для экстракорпоральной перфузии, с другой стороны канюлируется только бедренная артерия двухбаллонным трехпросветным катетером. Верхний (торакальный) баллон



Рис. 3. Контур ЭКМО, заполненный и подготовленный к работе



Рис. 4. Использование контура ЭКМО для перфузии органов консервирующим раствором «Кустодиол»

продвигается в торакальную аорту и там раздувается, что способствует изоляции органов грудной клетки и головного мозга во время перфузии. Канюли для экстракорпоральной перфузии подключаются к заполненному контуру ЭКМО. Заполнение магистралей контура ЭКМО, головки центрифужного насоса и оксигенатора производится либо одновременно с выполнением канюляции сосудов у донора (при наличии трех врачей в бригаде), либо до начала канюляции, если работают два врача. Для первичного заполнения контура мы использовали раствор НАЕС 10% – 1000,0 мл или волювен 6% – 1000,0 мл, стерофундин изотонический – 500,0 мл, раствор натрия гидрокарбоната 5% – 400,0 мл, гепарин – 50 000 ЕД. Перфузия начинается с установления средних показателей объемной скорости кровотока на уровне 1,0–1,2 л/мин. При отсутствии технических осложнений скорость потока может быть увеличена до 2,0–2,5 л/мин. Для обеспечения нормотермии оптимально производить поддержание температуры крови в контуре на уровне 37 °С путем подключения оксигенатора к портативному терморегулирующему устройству. При отсутствии подобного устройства необходимо сформировать петлю из магистралей контура и погрузить ее в термоконтейнер с водой соответствующей температуры. Обеспечение нормотермии – чрезвычайно важное условие для поддержания метаболизма внутренних органов в условиях ЭКМО. В ходе перфузии мы вводили в контур раствор маннита – 400,0 мл, лазикс – 100–200 мг болюсно, соллюмедрол – 1000 мг. В последний час перед окончанием перфузии вводили в контур вазодилаторы.

Адекватность проводимой перфузии оценивали по лабораторным показателям крови и наличию диуреза. Исследование крови из контура ЭКМО проводили сразу после начала перфузии, затем каждый час на протяжении процесса перфузии. Оценивали такие показатели, как газовый и электролитный состав крови, общий анализ крови, биохимический анализ крови. Перфузию расценивали как адекватную при значениях рН 7,2–7,4, отсутствии роста таких биохимических показателей крови, как АЛТ, АСТ, креатинин, мочевины, амилазы, относительно значений, полученных до перфузии. Отмечали наличие диуреза, когда адекватная нормотермия была достигнута.

Минимальную длительность перфузии установили на уровне 1 часа, максимальную – 4 часа. Длительность перфузии была более продолжительной в тех случаях, когда мы предполагали значимое ишемическое повреждение органов на фоне тяжелой травмы, кровопотери, высоких доз вазопрессоров, продолжительной гипотонии и т. д.

Непосредственно процедура изъятия органов не отличалась от таковой при стандартном мультиор-

ганном изъятии или изолированном изъятии почек. После пережатия венозной магистрали, идущей от пациента к венозному резервуару, открывали дополнительный порт, врезанный в венозную магистраль, соединяющую венозный резервуар и головку центрифужного насоса. В результате через данный порт поступал охлажденный «Кустодиол», который нагнетался в аорту с помощью центрифужного насоса, создавая тем самым более оптимальные условия для качественной отмывки органов от крови в сравнении со стандартной перфузией, основанной на гидростатическом давлении. Слив консервирующего раствора осуществлялся через дополнительную магистраль, соединенную через тройник с венозной магистралью, идущей к венозному резервуару.

За период с 01.01.2010 по 01.12.2011 мы выполнили 11 процедур ЭКМО у ДНС. Характеристики доноров и объем донорских операций представлены в табл. 3.

Практически все доноры до наступления смерти вследствие необратимой остановки кровообращения подверглись влиянию повреждающих факторов с точки зрения тепловой ишемии внутренних органов. В случае использования стандартной техники холодной перфузии *in situ* у данной категории доноров доля трансплантатов с отсроченной функцией и ее продолжительность были бы, несомненно, высокими. Данные же, полученные нами при использовании ЭКМО, позволяют думать о данном методе как о серьезном ресурсе, способном уменьшить ишемическое повреждение донорских органов.

В табл. 4 представлена детализация процедуры ЭКМО по временным и лабораторным показателям, из которой следует, что три основные функциональные составляющие ЭКМО позволяют эффективно корректировать ишемические повреждения донорских органов – возможность длительного поддержания адекватной оксигенации, достаточного минутного объема перфузии и температуры.

Мы использовали ЭКМО как в случаях изолированной эксплантации почек, так и в случае мультиорганной эксплантации. Ниже приведены данные по результатам трансплантации почек, изъятых в условиях ЭКМО (табл. 5), а также наш первый опыт (он же первый для России) использования процедуры ЭКМО у ДНС с целью выполнения мультиорганной эксплантации.

Сравнивая полученные нами результаты трансплантации донорских почек с результатами упомянутых выше исследовательских групп из Испании и США, можно констатировать, что достигнутая нами частота первичной функции почечных трансплантатов, составляющая 63,2%, пока ниже частоты первичной функции, полученной американски-

Таблица 3

**Общая характеристика доноров**

Доноры	Возраст	Пол	Причина смерти	Органы	Комментарии
1	35	м	ЧМТ	Почки изъяты, но к трансплантации не рекомендовались	Технические сложности при подключении ЭКМО. На протяжении всей процедуры датчик потока не определял объемной скорости, что послужило причиной для отказа от изъятия почек
2	56	ж	ЧМТ в сочетании с травматическим САК	Почки	Анурия в течение последних 5 часов
3	38	м	ЧМТ	Почки	Перед изъятием гипотония менее 60 мм рт. ст. в течение 3 часов
4	30	м	ЧМТ	Почки	Кровопотеря на фоне тяжелой открытой ЧМТ. Нб менее 40 г/л
5	31	м	ЧМТ – огнестрельное ранение головы	Почки	Кровопотеря в сочетании с высокими дозировками вазопрессоров в комбинации допамина 40 мкг/кг/мин и адреналина в/в струйно
6	41	м	ЧМТ – огнестрельное ранение головы	Почки	Допамин 80 мкг/кг/мин
7	21	м	ЧМТ	Почки	Допамин 40 мкг/кг/мин
8	31	м	ЧМТ	Почки	Состоявшееся ЖКК, Нб 40 г/л, допамин 40 мкг/кг/мин
9	45	м	ЧМТ	Почки	Гипотония менее 60 мм рт. ст. в течение 2 часов, допамин 25 мкг/кг/мин
10	41	м	ЧМТ	Почки	Допамин 40 мкг/кг/мин, Sat O <sub>2</sub> 92%, гипотермия
11	20	м	РАГМ	Печень, поджелудочная железа, почки	Повреждение легких вследствие аспирации, max значение P O <sub>2</sub> при Fi O <sub>2</sub> – 100% 179,2 мм рт. ст. Невозможность прохождения теста апноэтической оксигенации

Таблица 4

**Временные и лабораторные показатели ЭКМО (n = 11)**

	Среднее значение	Интервал
Возраст доноров, годы	35,4 ± 10,5	20–56
Время от госпитализации до констатации смерти, ч	45,4 ± 23,7	3–72,5
Время от констатации смерти до начала ЭКМО (время канюляции), мин	15,2 ± 2,9	9–20
pH на начало перфузии	7,02 ± 0,15	6,8–7,2
pH на окончание перфузии	7,5 ± 0,31	7,1–8
pO <sub>2</sub> в ходе перфузии, мм рт. ст.	460,5 ± 44,0	400–525
Общая длительность перфузии, мин	125,5 ± 70,5	60–300

ми и испанскими коллегами – 91,7 и 87,5% соответственно. На наш взгляд, данное различие объясняется прежде всего объемом и качеством предшествующей донорству медицинской помощи, кроме того, мы полагаем, что серьезный вклад вносит

Таблица 5

**Результаты трансплантации почек, изъятых у ДНС в условиях ЭКМО (n = 19)**

Показатель функции		
Первичная функция	12/19	63,2%
Отсроченная функция	7/19	36,8%
Первично не функционирующий трансплантат	0/19	
Сеансы гемодиализа (среднее количество)	1,63	0–10
Креатинин при выписке, мкмоль/л (среднее значение)	115,4	77–164

полноценность и качество составляющих контура ЭКМО. Мы пока не приобрели портативного терморегулирующего устройства для обеспечения у доноров контролируемой нормотермии.

**Мультиорганная эксплантация в условиях ЭКМО**

*Донор: А., 20 лет, поступил в реанимационное отделение одной из городских больниц 27.09.2011 г.*

с Ds: нетравматическое паренхиматозное кровоизлияние в вещество и желудочки головного мозга. В этот же день была выполнена операция – удаление внутримозговой гематомы в объеме 100,0 см<sup>3</sup>. В послеоперационном периоде состояние крайне тяжелое. Выполнялся весь необходимый объем реанимационной помощи, но, несмотря на это, 29.09.2011 г. у пациента была зафиксирована глубина комы 3 балла по шкале ком Глазго, о чем был поставлен в известность МКЦОД.

29.09.2011 г. на момент осмотра специалиста МКЦОД у пациента зафиксирована атоническая кома, гемодинамика поддерживалась в/в введением допамина в дозе 4 мкг/кг/мин. Данный пациент рассматривался в качестве потенциального мультиорганного донора. Была начата процедура диагностики смерти мозга. Однако многочисленные попытки достигнуть необходимого уровня PO<sub>2</sub> в артериальной крови (200 или более мм рт. ст.) для выполнения теста апноэтической оксигенации результата не дали. Было принято решение об использовании процедуры ЭКМО после наступления смерти донора вследствие необратимой остановки кровообращения.

30.09.2011 г. гемодинамические показатели донора ухудшились, увеличилась доза допамина до 15 мкг/кг/мин, наблюдалось урежение ЧСС до 50 в мин, на этом фоне в 18 ч 00 мин произошла остановка кровообращения, реанимационные мероприятия в течение 30 мин без эффекта, в 18 ч 30 мин констатирована смерть.

Время канюляции бедренных сосудов составило 9 мин, и в 18 ч 39 мин начата нормотермическая ЭКМО. В таблице ниже приведена динамика показателей крови донора до начала перфузии и в процессе перфузии.

Таблица 6

**Динамика показателей крови донора в процессе перфузии**

Показатели	На начало перфузии (18 ч 39 мин)	Через 1 час перфузии (19 ч 39 мин)	Через 2 часа перфузии (20 ч 39 мин)	Через 3 часа перфузии (21 ч 39 мин)
Общий белок	50,7	24,8	24,8	24,8
Общий билирубин	6,7	6,0	4,2	4,0
Креатинин	89,9	99,9	116,9	114,0
Мочевина	9,8	9,9	10,2	10,2
АЛТ	59	43	58	79
АСТ	106	98	83	74
Амилаза	192,6	83,5	91,9	91,7
pH	7,2	7,43	7,43	7,43
Na	137,1	132,8	133,0	133,0
K	2,8	3,01	3,5	4,3

В целом общая продолжительность перфузии составила 291 мин. Учитывая возраст донора и удовлетворительные показатели крови донора как до перфузии, так и в процессе перфузии, было принято решение выполнить мультиорганную эксплантацию донорских органов в объеме печени, поджелудочной железы и почек.

В 23 ч 00 мин была начата лапаротомия. При визуальном осмотре и пальпации органов брюшной полости не было найдено каких-либо убедительных противопоказаний к эксплантации органов. Кроме того, была выполнена интраоперационная биопсия печени донора. Перфузия была остановлена в 23 ч 30 мин, и сразу же началась консервация органов раствором «Кустодиол» в объеме 10 л. Перфузия «Кустодиолом» осуществлялась через контур ЭКМО с объемной скоростью работы насоса 2,5 л/мин (рис. 4). Операция мультиорганной эксплантации выполнялась стандартным способом.

**Результаты трансплантации органов, эксплантированных в условиях перфузии ЭКМО**

**Печень.** Пересажена в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Срок консервации – 8,5 ч. Реципиент: мужчина 42 лет с Ds: вирусный гепатит С, гепатоцеллюлярная карцинома. Тяжесть состояния по MELD – 24 балла. Результат «зеро» биопсии: архитектура сохранена, портальные тракты не расширены. При окраске на жир – диффузные пылевидные мелкокапельные изменения гепатоцитов. Крупнокапельные изменения не обнаружены.

В 1-е сутки после трансплантации о. билирубин – 40,47 мкмоль/л, АЛТ – 1836 МЕ/л, АСТ – 971 МЕ/л, затем ежедневное поступательное снижение этих показателей. На 25-е сутки выписан. На момент выписки о. билирубин – 13,79 мкмоль/л, АЛТ – 23 МЕ/л, АСТ – 18 МЕ/л.

**Поджелудочная железа и правая почка.** Пересажены в РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского. Реципиент: мужчина 48 лет с Ds: сахарный диабет I типа, диабетическая нефропатия с исходом в ХПН, программный гемодиализ в течение 3 лет.

Срок консервации поджелудочной железы – 6 ч 10 мин. Срок консервации почки – 4 ч 30 мин. С момента включения поджелудочной железы в системный кровоток реципиента до выписки из клиники на 21-е сутки гликемия не превышала 5,5 ммоль/л. На 3-и сутки после операции амилаза крови и панкреатическая амилаза крови составляли 161 и 136 ЕД/л соответственно, на 19-е сутки – 122 и 102 ЕД/л соответственно. Осложнения: замедленное восстановление функции донорской почки, тем не менее на 6-е сутки креатинин плазмы крови составлял менее 300 мкмоль/л. На 07.12.2011 г. гликированный гемоглобин составил 4,9%, что свиде-

тельствует о нормальной эндокринной функции пересаженной поджелудочной железы.

**Левая почка.** Пересажена в НИИСП им. Н.В. Склифосовского. Срок консервации – 13 ч. Реципиент: мужчина 45 лет с Ds: хронический гломерулонефрит; ХПН.

В послеоперационном периоде наблюдалась отсроченная функция трансплантата. Пациенту было выполнено 10 сеансов гемодиализа. Нормализация креатинина ( $\leq 200$  мкмоль/л) на 31-е сутки. Креатинин при выписке – 164 мкмоль/л.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основной проблемой, сопутствующей эксплантации органов у доноров с небиющимся сердцем, остается достаточно высокая доля трансплантатов, демонстрирующих отсроченную функцию. Данная проблема широко документирована в многочисленных печатных работах. В публикациях наиболее опытных групп исследователей доля почечных трансплантатов с отсроченной функцией варьирует от 48 до 78,4% [8–10]. В наших исследованиях частота отсроченной функции почечного трансплантата от ДНС составляла 68% [1]. Во всем мире эксплантация почек у ДНС сопровождалась применением различных техник, направленных на снижение частоты отсроченной функции трансплантатов. Среди наиболее известных необходимо отметить использование перфузии *in situ* посредством двухбаллонного трехпросветного катетера, применение перфузионных машин в дотрансплантационном периоде, позже появились техники, использующие экстракорпоральную перфузию и оксигенацию сначала в условиях гипотермии, а затем нормотермии. Наилучшие результаты в снижении частоты отсроченной функции почечных трансплантатов получены при использовании технологии ЭКМО с нормотермией. Кроме того, технология ЭКМО позволяет выполнять мультиорганные эксплантации у ДНС при условии их строгого отбора.

Драматическое снижение частоты отсроченной функции донорских почек, по данным литературы, объясняется прежде всего тем, что кровь демонстрирует лучшие способности в предотвращении и коррекции ишемического повреждения органов, чем кристаллоидные консервирующие растворы [4].

Наш пока небольшой опыт использования технологии ЭКМО у доноров с небиющимся сердцем позволяет предварительно определить, что среди многочисленных техник, используемых при работе с ДНС, технология ЭКМО демонстрирует наилучшие результаты и может стать методом выбора при работе с донорами, смерть которых наступила вследствие необратимой остановки кровообращения. Использование нормотермической перфузии ЭКМО позволяет рассматривать доноров с небиющимся

сердцем в качестве возможных мультиорганных доноров при условии строгого соблюдения техники перфузии, известных клинических и лабораторных данных донора, безупречного владения техникой подключения контура ЭКМО, строгого соблюдения установленных временных интервалов в контексте длительности реанимационных мероприятий, длительности периода канюляции донора и подключения контура.

Среди относительных недостатков метода следует упомянуть достаточно высокую стоимость расходных материалов и оборудования, дополнительное обучение врачебного персонала донорского центра, усложнение организации и логистики процедуры эксплантации, однако, на наш взгляд, это компенсируется лучшим качеством трансплантатов, но что наиболее важно – меняет стандартные взгляды и подходы к использованию доноров с небиющимся сердцем.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Минина М.Г. Комплексный подход в обеспечении эффективного донорства органов для трансплантации // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2008.
2. Cardiopulmonary bypass. Principles and practice. Lippincott Williams & Wilkins 2008. P. 35–45.
3. Cardiopulmonary bypass. Principles and practice. Lippincott Williams & Wilkins 2008. P. 632–643.
4. Valero R., Cabrer C., Oppenheimer F. et al. Normothermic recirculation reduces primary graft dysfunction of kidneys obtained from non – heart – beating donors // *Transpl. Int.* 2000. Vol. 13. P. 303–310.
5. Magliocca J.F., Magee J.C., Rowe S.A. et al. Extracorporeal Support for Organ Donation after Cardiac Death effectively expands the Donor Pool // *The Journal of Trauma, Injury, Infection, and Critical Care.* Vol. 58. № 6. 2005. P. 1095–1102.
6. Fondevila C., Hessheimer A.J., Ruiz A., Calatayud D. et al. Liver Transplant Using Donors After Unexpected Cardiac Death: Novel Preservation Protocol and Acceptance Criteria // *American Journal of Transplantation.* 2007. Vol. 7. P. 1849–1855.
7. Casavilla A., Ramirez C., Shapiro R. et al. Experience with liver and kidney allografts from non – heart – beating donors // *Transplantation.* 1995. Vol. 59. P. 197–203.
8. Otero A., Gomez-Gutierrez M., Suarez F. et al. Liver transplantation from Maastricht category 2 non – heart – beating donors // *Transplantation.* 2003. Vol. 76. P. 1068–1073.
9. Cho Y.W., Terasaki P.I., Cecka J.M. et al. Transplantation of kidneys from donors whose hearts have stopped beating // *N. Engl. J. Med.* Vol. 338. P. 221–225.
10. Daemen J.H., De Vries B., Kootstra G. Effect of machine perfusion preservation on delayed graft function in non – heart beating donor kidneys – early results // *Transplant. Int.* Vol. 10. P. 317–322.
11. Gonzales-Segura C., Castela A.M., Torras J. et al. A good alternative to reduce kidney shortage. Kidneys from non – heartbeating donors // *Transplantation.* Vol. 65. P. 1465–1470.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ БОЛЬНЫМ С ЦИРРОЗОМ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ И АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ. ДАННЫЕ ОДНОГО ЦЕНТРА

*Герасимова О.А., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К.*

Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, г. Санкт-Петербург

Накопленный в РНЦРХТ опыт ортотопических трансплантаций печени (ОТП) позволил сравнить исходы терминальной фазы болезни печени в двух самых многочисленных группах больных: циррозом печени вирусной этиологии (ВГ) и аутоиммунными заболеваниями печени (АИЗП). Несмотря на то, что у больных ВГ показатель неотложности выполнения ОТП ниже, частота летальных исходов в листе ожидания выше по сравнению с АИЗП, что объясняется более благоприятным течением иммунной болезни. После ОТП существенных различий в течении раннего и отдаленного посттрансплантационных периодов не было обнаружено, хотя рецидивы вирусных гепатитов регистрируются намного чаще, чем АИЗП. Показатели годичной и трехлетней выживаемости оказались сопоставимыми.

Для профилактики реинфекции гепатита В успешно применяли аналоги нуклеозидов (телбивудин), что позволило сократить до минимума рецидивы болезни. Профилактика и лечение вирусного гепатита С после ОТП представляется актуальной задачей, несмотря на невысокую эффективность противовирусной терапии.

Рецидивы АИЗП не представляют фатальной угрозы для жизни больного, поскольку модификация иммуносупрессивной терапии позволяет ограничить прогрессирование болезни.

*Ключевые слова:* трансплантация печени, циррозы печени вирусной этиологии, аутоиммунные заболевания печени.

## COMPARATIVE RESULTS OF LIVER TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH VIRAL CIRRHOSIS AND AUTOIMMUNE LIVER DISEASES AT A SINGLE CENTER

*Gerasimova O.A., Granov D.A., Zherebtsov F.K.*

Russian Scientific Center of Radiology and Surgical Technology, Saint-Petersburg

Russian Scientist Centre for Radiology and Surgical Technology has sufficient experience of orthotopic liver transplantation (100 OLT), which allowed comparing the outcomes of the terminal stages of liver disease in the two most numerous groups of patients: viral cirrhosis (VH) and autoimmune liver diseases (AILD). Despite the fact that patients with VH indicator of urgency performing OLT (MELD) lower, rate of deaths on the waiting list higher than AILD, due to more favorable course of immune disease. After OLT significant differences during the early and last posttransplant periods were not found, although the recurrences of viral hepatitis are recorded much more frequently than AILD. One-year and a three-year survival rates were comparable. To prevent reinfection of the hepatitis B successfully used nucleoside analogues (telbivudine), which allowed minimizing recurrence of the disease. Prevention and treatment of hepatitis C after the OLT is a relevant problem, despite the low efficiency of antiviral therapy. Relapses AILD not represent a real threat to the life of the patients, because the modification of immunosuppressive therapy can limit the progression of the disease.

*Key words:* liver transplantation, waiting list, autoimmune liver diseases, viral hepatitis, cirrhosis.

*Статья поступила в редакцию 09.11.11 г.*

**Контакты:** Герасимова Ольга Анатольевна, к. м. н., ведущий научный сотрудник группы сердечно-сосудистой и трансплантационной хирургии РНЦРХТ

**Тел.** 8 (812) 596 90 96, **e-mail:** ren321@mail.ru

**ВВЕДЕНИЕ**

В России в последние годы существенно увеличилось количество трансплантаций печени, которая выполняется больным с терминальными стадиями различных заболеваний печени [1, 3, 4]. В РНЦРХТ в октябре 2011 г. выполнена 100-я ортотопическая трансплантация печени (ОТП). Центр в настоящее время остается единственным в Северо-Западном регионе, где выполняются операции такого рода. Накопленный опыт позволяет сравнить результаты ОТП в двух самых многочисленных когортах больных из листа ожидания центра: больных с циррозом печени вирусной этиологии и больных аутоиммунными заболеваниями печени.

В настоящее время применяются математические модели, основанные на сочетании нескольких показателей крови, которые определяют прогноз выживаемости в листе ожидания [8]. Активное наблюдение в листе ожидания позволяет своевременно корректировать возникающие осложнения, осуществлять госпитализацию кандидатов в профильные стационары города. Адекватное амбулаторное сопровождение больных после ОТП позволяет выявлять и лечить осложнения отдаленного посттрансплантационного периода.

Целью настоящей работы стал сравнительный анализ результатов наблюдения за больными в листе ожидания, непосредственных и отдаленных результатов трансплантаций печени, выполненных в РНЦРХТ больным с циррозом печени в исходе вирусного гепатита (ВГ) и аутоиммунных заболеваний печени (АИЗП).

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследование были включены больные из листа ожидания и в различные сроки после трансплантации печени. Всего обследованы 144 больных, наблюдавшихся в центре в 2007–2010 гг. Из них 62 больных с терминальной стадией АИЗП: аутоиммунный гепатит (АИГ) – 21 чел., преимущественно II типа, первичный билиарный цирроз (ПБЦ) – 30 чел., первичный склерозирующий холангит (ПСХ) – 4 чел., ПБЦ+АИГ – 7 чел.; 82 больных с циррозом печени в исходе вирусного гепатита (гепатит С – 41 чел., гепатит В – 33 чел., С+В – 8 чел). Группы были сопоставимы по возрасту – 41,6 ± 13,7 года в 1-й группе, 42,5 ± 9,1 года во 2-й группе (p = 0,6). В группе АИЗП соотношение ж/м – 61/9, в группе ВГ – 34/48.

Доля больных с циррозом печени вирусной этиологии в листе ожидания достигала величины 30%, совокупность больных с АИЗП – более 30%.

Распределение по группам крови представлено на рис. 1.

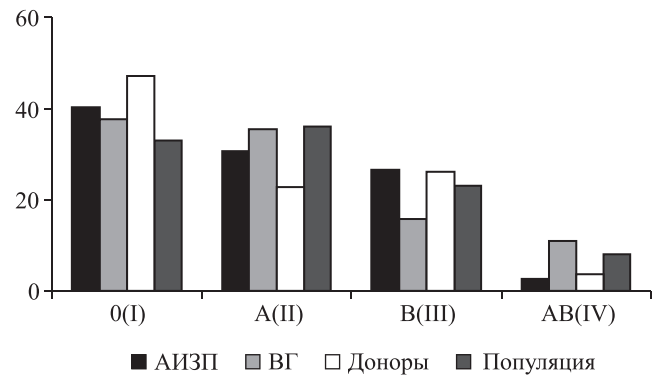


Рис. 1. Распределение по группам крови больных в листе ожидания ОТП в сравнении с донорской популяцией и населением России (по оси ординат доля пациентов в %)

Больные в листе ожидания наблюдались динамически не реже 1 раза в 2–3 мес. Всем проводилось исследование крови, определение показателя MELD [7]. В зависимости от показателя оценивался прогноз выживаемости и срочность выполнения операции.

В исследование также включили 55 больных после трансплантации печени – 26 больных с АИЗП и 29 больных с ВГ, группы были сопоставимы по основным демографическим характеристикам (табл. 1). Сроки наблюдения составили от 12 до 120 мес. после ОТП.

Таблица 1

**Демографические характеристики групп больных после ОТП**

	Средний возраст	Максимальный возраст	Минимальный возраст	Женщин	Мужчин
3-я группа	23,0 ± 15,8	62	17	24	2
4-я группа	38,9 ± 11,7	57	21	11	18
	p > 0,05				

Все больные получили индукционную терапию (даклизумаб или базиликсимаб), стандартную трехкомпонентную терапию ингибиторами кальциневрина (такролимус или циклоспорин), микофенолатами и преднизолоном. В группе ВГ отменяли преднизолон через 3 месяца после ОТП, в группе АИЗП, учитывая аутоиммунную природу болезни и возможность рецидива в трансплантате, сохраняли преднизолон, но стремились к минимизации объема иммуносупрессии.

В отдаленном периоде после ОТП отторжение или рецидив болезни выявляли по данным биопсии трансплантата печени, выполненной по показаниям или по протоколу через 1, 3 и 5 лет после ОТП.

Статистический анализ проводился при использовании программы Statistica v.6.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Сроки ожидания ОТП составили  $8,4 \pm 6,8$  мес. в группе больных АИЗП,  $5,9 \pm 4,2$  мес. в группе больных с циррозом печени вирусной природы ( $p = 0,3$ ).

Основные причины смерти больных изучаемых групп в листе ожидания представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Структура летальности в листе ожидания у больных изучаемых групп**

Причины смерти	АИЗП (число/%)	ВГ (число/%)
Кровотечение из ВРВП	2/3,2	7/8,5
Прогрессирование болезни	7/11,3	14/17,1
Сепсис	1/1,6	2/2,4
Неизвестна	1/1,6	
Всего	11/17,7	23/28

Частота летальных исходов в листе ожидания оказалась достоверно выше в группе пациентов с ВГ. Средняя частота кровотечений как фатальных осложнений цирроза печени составила в группе АИЗП  $0,8 \pm 0,6$ , в группе ВГ –  $1,4 \pm 1,0$  ( $p = 0,0006$ ). Корреляционный анализ подтверждает положение о том, что кровотечения чаще регистрируются у больных ВГ ( $r = 0,17$ ;  $p = 0,035$ ), а также на одного больного ВГ приходится больше эпизодов кровотечения из варикозных вен пищевода, чем у больных АИЗП ( $r = 0,25$ ;  $p = 0,002$ ).

Распределение показателей MELD в листе ожидания, рассчитанных при внесении в лист ожидания ОТП, представлено в табл. 3.

Таблица 3

**Распределение по показателю MELD в листе ожидания**

Показатель	АИЗП, чел.	ВГ, чел.
5–12	30	56
12–20	23	18
> 20	9	8
Среднее значение	$12 \pm 4$	$11 \pm 3$

Существенных различий в значении показателя не было выявлено. При проведении корреляционного анализа в группах ожидания ОТП также не было выявлено статистически значимых зависимостей показателя MELD и его динамики от вида патологии печени ( $r = 0,8$  и  $-0,1$ ;  $p = 0,3$  и  $0,6$  соответственно).

Прослеживали индивидуальную динамику показателя при наблюдении больных в листе ожидания, что позволяло оценивать результаты поддерживающего лечения на данном этапе. В некоторых случаях удавалось уменьшить значение этого интеграль-

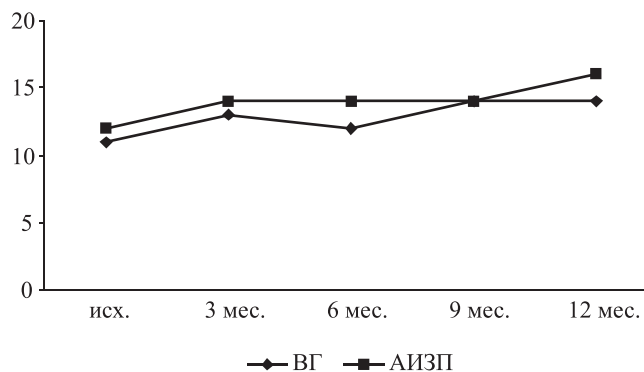


Рис. 2. Общая динамика MELD в листе ожидания (ВГ – вирусные гепатиты, АИЗП – аутоиммунные заболевания печени, по оси ординат – показатель MELD в баллах)

ного показателя, особенно в группе больных АИЗП, когда соблюдение режима и прием лекарственных препаратов приводили к снижению концентрации билирубина в сыворотке крови, коррекции коагуляционного статуса.

Общая динамика MELD представлена на рис. 2.

При определении коэффициента Манна–Уитни определились достоверные различия в значении MELD ( $Z = 2,64$ ;  $p = 0,008$ ), т. е. показатель оказался выше в группе АИЗП.

Определенный перед операцией показатель MELD был выше в группе больных, которым выполнялась ОТП, по сравнению с группой из листа ожидания. Так, в группе АИЗП показатель оказался  $18 \pm 6$ , в группе ВГ –  $14 \pm 4$ , ( $p < 0,005$ ). Средний срок ожидания ОТП составил в группе АИЗП  $10,8 \pm 4,6$  мес., в группе ВГ –  $8,9 \pm 4,4$  мес. ( $p < 0,05$ ).

Средние сроки госпитализации в группе АИЗП составили  $35,6 \pm 9,5$  дня, в группе ВГ –  $39,9 \pm 19,9$  ( $p > 0,05$ ). Таким образом, восстановление после ОТП происходило несколько быстрее у больных АИЗП, чем у больных циррозом печени вирусной природы, сроки пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии оказались сопоставимыми: в группе АИЗП –  $8,4 \pm 5$  дней, в группе ВГ –  $11,3 \pm 4,4$  ( $p > 0,05$ ).

Из 26 больных группы АИЗП умерли в разные сроки после ОТП 3 больных (из них в отдаленном периоде – одна больная), из 29 больных группы ВГ – 2 больных.

Частота ранних кризов отторжения не отличалась в изучаемых группах (7 больных с АИЗП (27%) и 8 больных из группы ВГ (27,5%), все кризы были стероидозависимыми и клинически малосимптомными, их наличие подтверждено гистологически.

Частота отторжения в отдаленные сроки составила в группе АИЗП 19,2% (5 больных), в группе ВГ – 13,8% (4 больных) ( $p < 0,05$ ). В отдаленном периоде развитие отторжения в обеих группах было связано в большинстве случаев с нарушени-



ем больными медицинских рекомендаций ( $r = 0,31$ ;  $p = 0,026$ ).

Частота рецидивов основных заболеваний, приведших к циррозу печени, в группе АИЗП составила 19% (5 больных), в 4-й группе – 52% (11 больных), что закономерно, поскольку вероятность возвратного вирусного гепатита намного выше. Профилактику рецидивов гепатита В осуществляли постоянным приемом телбивудина, поэтому основную долю рецидивов составила реинфекция гепатита С.

При наблюдении за реципиентами изучаемых групп в сроки до 36 мес. достоверных различий в динамике средних значений основных биохимических показателей функции печени получено не было.

Выживаемость реципиентов в первый год после ОТП составила в группе ВГ 90%, в группе АИЗП – 87%, трехлетняя – 83%, независимо от причины, приведшей к развитию терминальной стадии болезни печени.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка кандидата по шкале MELD, по многочисленным данным, позволяет интегрально оценить его статус и определить краткосрочный прогноз выживаемости [9, 10]. Так, при значениях менее 9 баллов смертность в ближайшие три месяца составляет 2–4%, от 10 до 20 баллов – 16–23%, 20–30 баллов – 50–76%, более 30 баллов – 66–83% [6]. Смертность в листе ожидания не зависит от времени ожидания, а определяется тяжестью состояния больного [8]. Проведенное сравнение в основных группах больных, нуждавшихся в ОТП, позволило обнаружить, что показатель MELD был выше в группе АИЗП, а летальные исходы и серьезные осложнения цирроза печени встречались достоверно чаще в группе ВГ. Это объясняется тем, что АИЗП имеют более благоприятное течение по сравнению с дистрофической стадией цирроза печени вирусной природы. Показатель MELD является расчетным, он тем выше, чем больше концентрация билирубина в сыворотке крови. Поэтому он выше у больных АИЗП, где характерным симптомом является холестаз, а ведущим синдромом терминальной стадии ВГ является портальная гипертензия и ее последствия в виде кровотечений из варикозных вен пищевода, риск смерти от которых увеличивается после каждого последующего кровотечения [6].

В изученных когортах больных преобладала группа крови 0(I), доля больных с группой крови А(II) сопоставима с общей популяцией России, больных АИЗП с группой крови В(III) оказалось больше, а больных ВГ – меньше, чем среди населения России (рис. 1) [5]. Интересно отметить, что в Санкт-Петербурге и Ленинградской области доля

доноров с 0(I) группой крови оказалась значимо больше, чем с группой крови А(II), это отличается от распределения в популяции России. Группа крови АВ(IV) среди доноров встретилась в 3,7%, что существенно реже, чем среди кандидатов с ВГ и в общей популяции [www.aboblood.com].

Непосредственные результаты ОТП сопоставимы в сравниваемых группах больных.

В отдаленные сроки, когда актуальны рецидивы болезни, проблемой является реинфекция вирусного гепатита, особенно гепатита С. Назначение современных аналогов нуклеозидов позволило ограничить рецидивы гепатита В [2]. Несмотря на то что эффективность противовирусной терапии гепатита С незначительна [12], считаем целесообразным ее проведение после определения рисков осложнений для конкретного реципиента.

АИЗП рецидивируют в трансплантате тем чаще, чем больше срок после ОТП [7, 13]. Они при своевременной диагностике не представляют значительной угрозы потери трансплантата, поскольку корригируются модификацией иммуносупрессивной терапии. Так, у больных с выявленным рецидивом аутоиммунного гепатита был возобновлен прием преднизолона или увеличена его доза, а при рецидиве первичного билиарного цирроза назначены микофенолаты и препараты урсодезоксихолевой кислоты. Дальнейшего прогрессирования АИЗП по данным биохимического и иммунологического исследования крови не отмечено.

Полученные результаты позволяют констатировать, что мониторинг и своевременная диагностика рецидива основного заболевания печени в трансплантате, коррекция иммуносупрессии и противовирусная терапия необходимы для улучшения выживаемости реципиентов трансплантата печени.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Андрейцева О.И.* Возможности ортотопической трансплантации печени при лечении больных с терминальными поражениями печени // *Consilium medicum*. 2004. № 6. С. 414–421.
2. *Герасимова О.А., Гранов Д.А., Жеребцов Ф.К., Боровик В.В.* Первый опыт применения телбивудина у больных после трансплантации печени // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2010. Т. XII. № 1. С. 33–38.
3. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2009 г. II сообщение регистра Российского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2010. Т. XII. № 3. С. 6–15.
4. *Бабенко Н.Н., Богорад И.В. и др.* Клиническая трансплантология / Под ред. Б.А. Константинова. М., 2004. 304 с.

5. Тюняев А.А. К вопросу о корреляционной связи между этносом и группами крови // *Organizmica*. 2008. № 3 (15). С. 214–216.
6. Al Sibae M.R., Cappell M.S. Accuracy of MELD scores in predicting mortality in decompensated cirrhosis from variceal bleeding, hepatorenal syndrome, alcoholic hepatitis, or acute liver failure as well as mortality after non-transplant surgery or TIPS // *Dig. Dis. Sci.* 2011. Vol. 56 (4). P. 977–987.
7. Balan V., Abu-Elmagd K., Demetris A.J. Autoimmune liver diseases. Recurrence after liver transplantation // *Surg. Clin. North. Am.* 1999. Vol. 79. P. 147–152.
8. Brown R.S., Lake J.R. The survival impact of liver transplantation the MELD era, and the future for organ allocation and distribution // *Am. J. Transplant.* 2005. Vol. 5. P. 203–205.
9. Olthoff K.M., Brown R.S., Delmonico F.L. et al. Summary report of a national conference: Evolving concepts in liver transplantation in the MELD and PELD era // *Liver Transpl.* 2004. Vol. 10. P. A6–A22.
10. Freeman R., Edwards E. Liver transplant waiting time does not correlate with waiting list mortality: implications for liver allocation policy // *Liver Transpl.* 2000. Vol. 6 P. 543–552.
11. Kamath P.S., Wiesner R.H., Malinchoc M. et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver diseases // *Hepatology*. 2001. № 33. Vol. 2. P. 464–470.
12. Gordon F.D., Kwo P., Vargas H. Treatment of hepatitis C in liver transplant recipients // *Liver Transplant.* 2009. Vol. 15. P. 126–135.
13. Neuberger J., Gunson B., Hubscher S., Nightingale P. Immunosuppression affects the rate of recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation // *Liver Transpl.* 2004. Vol. 10. P. 488–491.

## КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ЛАПАРОТОМИИ У МУЛЬТИОРГАННЫХ ДОНОРОВ

Хубутия М.Ш., Гуляев В.А., Зимина Л.Н., Новрузбеков М.С., Минина М.Г.

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

Представлена макроскопическая оценка качества печени у 310 доноров органов и разработана балльная оценка качества трансплантата печени. У 181 донора проведена ретроспективная морфологическая оценка качества органа. Частой (58,6%) и нежелательной патологией донорской печени являлась жировая дистрофия (стеатоз). Обосновано, что наиболее достоверной информацией о состоянии донорской печени является комплексная ее оценка, включающая визуальный осмотр и исследование биопсийного материала с окраской на жир, что может способствовать увеличению донорского пула на 10%.

*Ключевые слова:* жировая дистрофия гепатоцитов (стеатоз), предоперационные биопсии печени, визуальная оценка печени, донор с расширенными критериями оценки.

## COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE LIVER AFTER LAPAROTOMY IN DONOR MULTIORGAN

Hubutia M.S., Gulyaev V.A., Zimina L.N., Novrusbekov M.S., Minina M.G.

N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow

The macroscopical evaluation of the liver of 310 donors is presented and the ball estimation of liver quality is developed. In 181 cases the retrospective morphological evaluation was performed (58.6%) undesirable pathology of donor liver – the fatty dystrophy (steatosis) was frequent. It is proved that most trustworthy information about the condition of donor liver is its complex evaluation including visual survey and biopsy with staining on fat that. It coned promote increase in a donor pool at 10%.

*Key words:* a fatty dystrophy of hepatic cells (steatosis), pre-operative liver biopsies, a visual evaluation of a liver, expanded criteria donor.

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на растущее число трансплантаций печени, во всем мире сохраняется дефицит донорских органов, что ведет к поиску различных путей увеличения донорского пула. Одним из наиболее важных направлений является использование органов от доноров с «расширенными критериями». Этот путь требует особенно тщательного контроля состояния донорских органов с целью обеспечения приемлемой функции трансплантата после операции и безопасности реципиентов.

Наиболее частым и нежелательным патологическим процессом, который может вызвать тяжелые осложнения после трансплантации печени, вплоть до летального исхода, является жировая дистрофия гепатоцитов (стеатоз).

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести комплексное исследование состояния печени после лапаротомии у мультиорганнных доноров различной категории, сопоставив визуальный и морфологический метод.

Статья поступила в редакцию 05.12.11 г.

**Контакты:** Гуляев Владимир Алексеевич, ведущий научный сотрудник отделения трансплантации печени, к. м. н.

Тел. 8 903 256 83 59, e-mail: vgulyaev-8@yandex.ru

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено исследование печени у 310 предполагаемых доноров – 87 (28,3%) женщин и 223 (71,7%) мужчин в возрасте от 18 до 71 года. У 181 донора было выполнено гистологическое исследование печени, из которых в 106 наблюдениях были выявлены признаки стеатоза различной формы и степени.

При подготовке к изъятию органов мы использовали методику Starzl et al., Miller et al., которая позволяет минимизировать тепловую и холодовую ишемию органа и связанные с ними повреждения паренхимы трансплантата [18, 21].

Операцию на мультиорганном доноре начинали со срединного разреза от яремной вырезки до лобка; стернотомию выполняли пневматической пилой или пилой Джигли. Грудным ретрактором Finochietto раскрывали грудную клетку. Рассекали перикард до уровня прохождения диафрагмального нерва от диафрагмы до правого предсердия. Одновременно выполняли лапаротомию, продолжая разрез до лобка, и в абдоминальный отдел вводили ретрактор Valfour, с помощью которого расширяли доступ в брюшную полость, что значительно облегчало работу.

Исследование брюшной полости включало не только осмотр печени и других органов брюшной полости (желудочно-кишечного тракта, селезенки), но и органов малого таза (у женщин – яичников и матки), состояния лимфоузлов брюшной полости (подвздошной ямки, брыжейки, портопеченочной и параортальной областей). В грудной клетке выполняли бимануальную пальпацию легких, визуальный осмотр перикарда и лимфатических узлов средостения. При необходимости разрезы расширяли вправо и влево на уровне 12-го ребра, особенно при значительной тучности или при отсроченной торакотомии.

Абдоминальная бригада хирургов выполняла ревизию органов брюшной полости для исключения опухоли первичного или метастатического происхождения, а также выявляла анатомические особенности кровоснабжения печени и в сомнительных случаях из края левой доли печени брали эксцизионную биопсию.

Биоптат печени делили на два фрагмента. С одного из фрагментов после фиксации 10% нейтральным формалином или без фиксации (срочная биопсия) получали срезы на замораживающем микротоме, которые окрашивали на жир красным «О» жиром, гематоксилином и эозином. Второй фрагмент печени после фиксации заливали в парафин и получали срезы на парафиновом микротоме. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Гликоген выявляли с помощью ШИК-реакции с обработкой контрольных срезов амилазой; HBs-антиген в цитоплазме гепа-

тоцитов, а также эластические волокна и медно-белковые комплексы выявляли с помощью реакции Шикага [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Может ли этот орган обеспечить метаболические потребности потенциального реципиента, для которого он заготавливается, будет ли трансплантат функционально состоятелен после имплантации – самые главные вопросы, которые решаются на этапе ведения донора и изъятия органов. При положительном ответе бригада трансплантологов, работающая с реципиентом, уведомляется о готовности к изъятию органа у донора и подает в операционную реципиента – кандидата на трансплантацию.

В своей практике при визуальном исследовании мы использовали 12 качественных параметров, которые позволили нам с определенной долей вероятности проводить визуальную оценку донорской печени независимо от характеристик доноров (стандартный донор или донор с расширенными критериями).

Первичная визуальная оценка печени донора представлена на рис. 1 и 2.

Почти у каждого третьего донора выявлена свободная жидкость в брюшной полости, отечность паренхимы печени, печеночно-двенадцатиперстной связки и забрюшинной клетчатки. Проводимая противотеменная терапия на операционном столе позволяла достаточно быстро уменьшить отек и улучшить макроскопическую характеристику трансплантата [17].

Обращали внимание на размер печени, на ее форму в целом и отдельных долей, форму краев долей (заостренные или закругленные). Определяли консистенцию печени (дряблая, плотная или нормальная), которая зависела от фиброзных изменений, степени отечности органа, степени жировой дистрофии гепатоцитов, возраста донора [11, 14].

Определяли тургор паренхимы. Так, после надавливания пальцем на поверхность нормальной печени «ямки» не остается, тогда как при стеатозе она образуется, и ее можно наблюдать некоторое время. При пальпации можно выявить зоны флюктуации (абсцесс, киста, эхинококк) и очаги уплотнения в виде узлов на фоне более мягкой ткани (различные опухолевые узлы, очаговую узловую гиперплазию).

При осмотре поверхности печени, ее капсулы отмечали: гладкая она (норма) или зернистая (мелкая и крупная зернистость); нет ли морщинистости капсулы (при дистрофиях и некрозах), втянутых борозд или выбухающих узлов. Поскольку цвет тонкой капсулы, как правило, соответствует цвету печени, то при визуальном исследовании можно су-

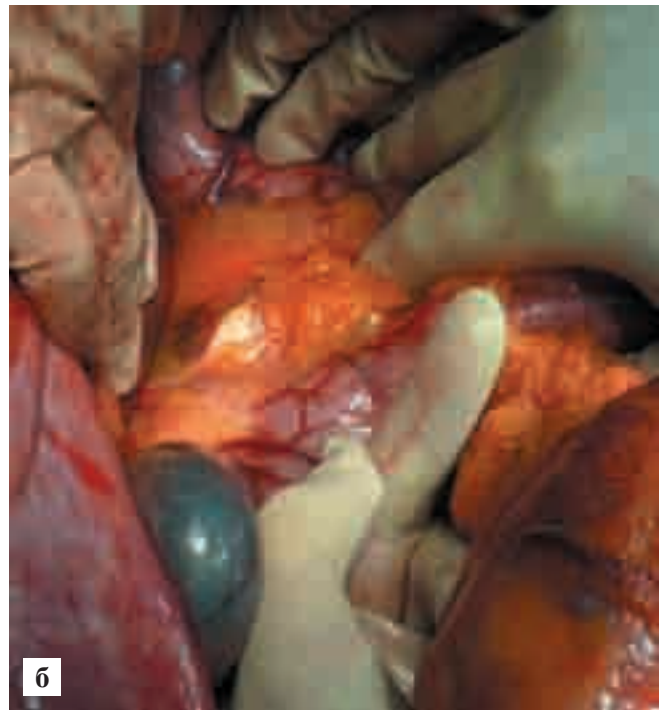
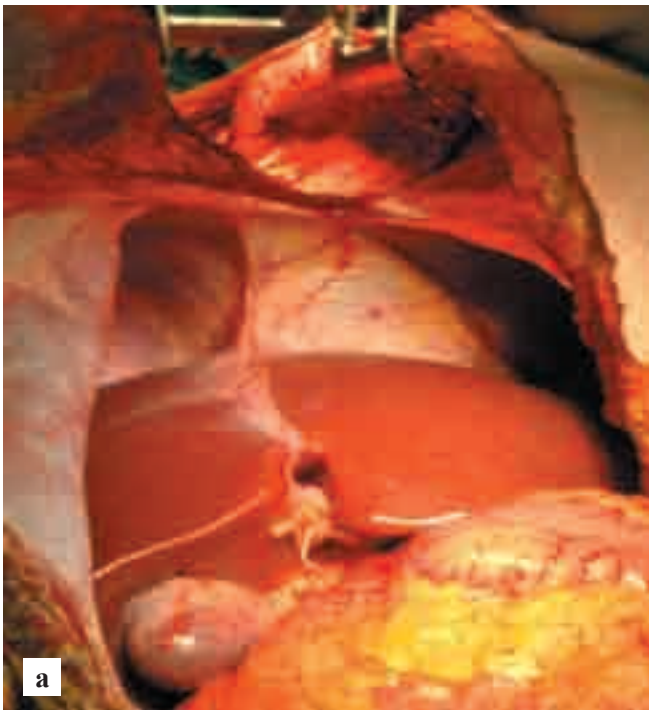


Рис. 1. Первичная визуальная оценка печени донора: а – после стернотомии осматривали органы грудной и брюшной полости; б – ревизия и пальпаторная оценка органов брюшной полости; в – оценка архитектоники сосудов, кровоснабжающих печень; г – инцизионная биопсия из края левой доли печени

дить о цвете паренхимы, равномерности его распределения, зависящего от сопутствующих хронических или острых заболеваний печени. Нормальная печень имеет буровато-красный цвет. При различных патологических процессах печень может менять оттенок и даже цвет. Так, при стеатозе она может принимать различные оттенки желтого цвета, при холестазе – различной интенсивности зеле-

ного; ржавый оттенок – при гемосидерозе; аспидно-серый цвет – при малярии. В зависимости от степени анемии или кровенаполнения цвет ткани печени может меняться от бледно-бурого до вишневого (рис. 3).

Печень оценивали также по типу кровообращения, наличию или отсутствию атеросклеротических бляшек сосудов, являющихся важными составля-

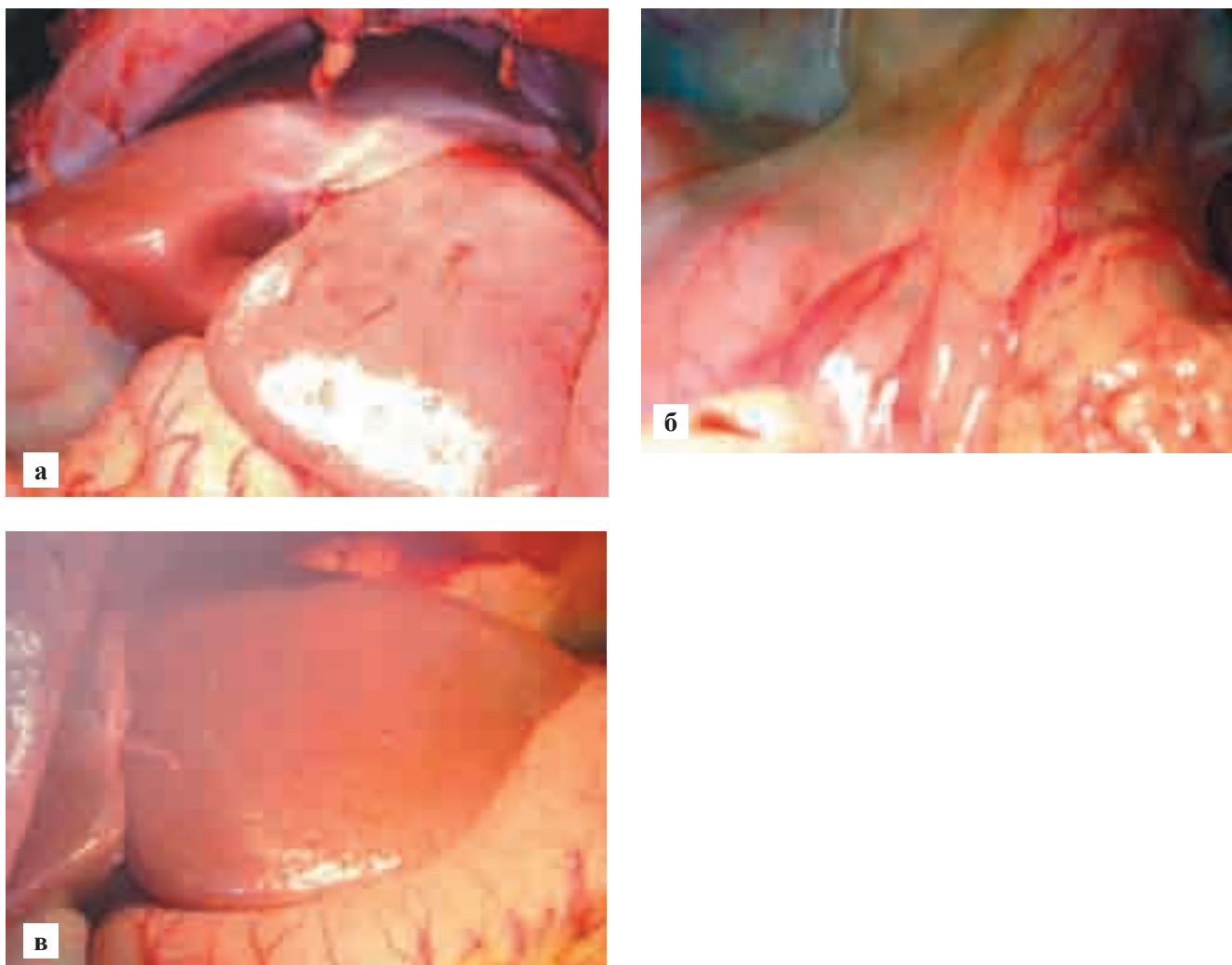


Рис. 2. Первичная визуальная оценка печени (продолжение): а – выраженный отек печени; б – отек гепатодуоденальной связки; в – макроскопическая картина после проведения терапии на операционном столе

ющими, влияющими на качество органа. Известно, что даже при тотальном атеросклерозе аорты сосуды, кровоснабжающие висцеральные органы, не поражены, а атеросклеротические бляшки чаще всего располагаются у устья чревного ствола или у места отхождения селезеночной, левой желудочной и общей печеночной артерии. При имплантации трансплантата печени для артериальной реконструкции чаще использовали не пораженный атеросклерозом сосудистый участок.

Отсутствие блеска капсулы, шероховатость, острые края левой и правой долей печени могут косвенно указывать на наличие холестаза, фиброза и хронического гепатита. Закругленные края долей печени, увеличение размера печени и бледно-желтый ее оттенок характерны для стеатоза. Перенесенные операции в эпигастральной области могут вызвать выраженный спаечный процесс, захватывающий висцеральную и диафрагмальную поверхность печени, а также изменять форму трансплантата, не оказывая влияния на последующее восстановление функции пересаженного органа.

Поэтому необходимо учитывать весь комплекс изменений и с учетом их делать окончательный вывод о пригодности трансплантата.

Нами была предложена балльная система визуальной оценки. Каждому признаку, снижающему качество органа, присуждали 0,5 балла. Органы, которые получали наименьшее количество баллов (0), не имели признаков, ухудшающих его качество, в то время как органы, получившие максимально возможное количество баллов (8), имели все эти признаки. Органы с количеством баллов 0–1 получали оценку «отлично», органы с количеством баллов 1,5–2 – оценку «хорошо», органы с количеством баллов 2,5–3 – оценку «удовлетворительно». Органы с количеством баллов выше 3 традиционно не изымались с целью дальнейшей пересадки. Основные параметры используемой нами визуальной оценки печени представлены в табл. 1.

Оценку «отлично» могли получить трансплантаты как от стандартных, так и от доноров с расширенными критериями. По нашему мнению, визуальную оценку «отлично» имели 102 донорских

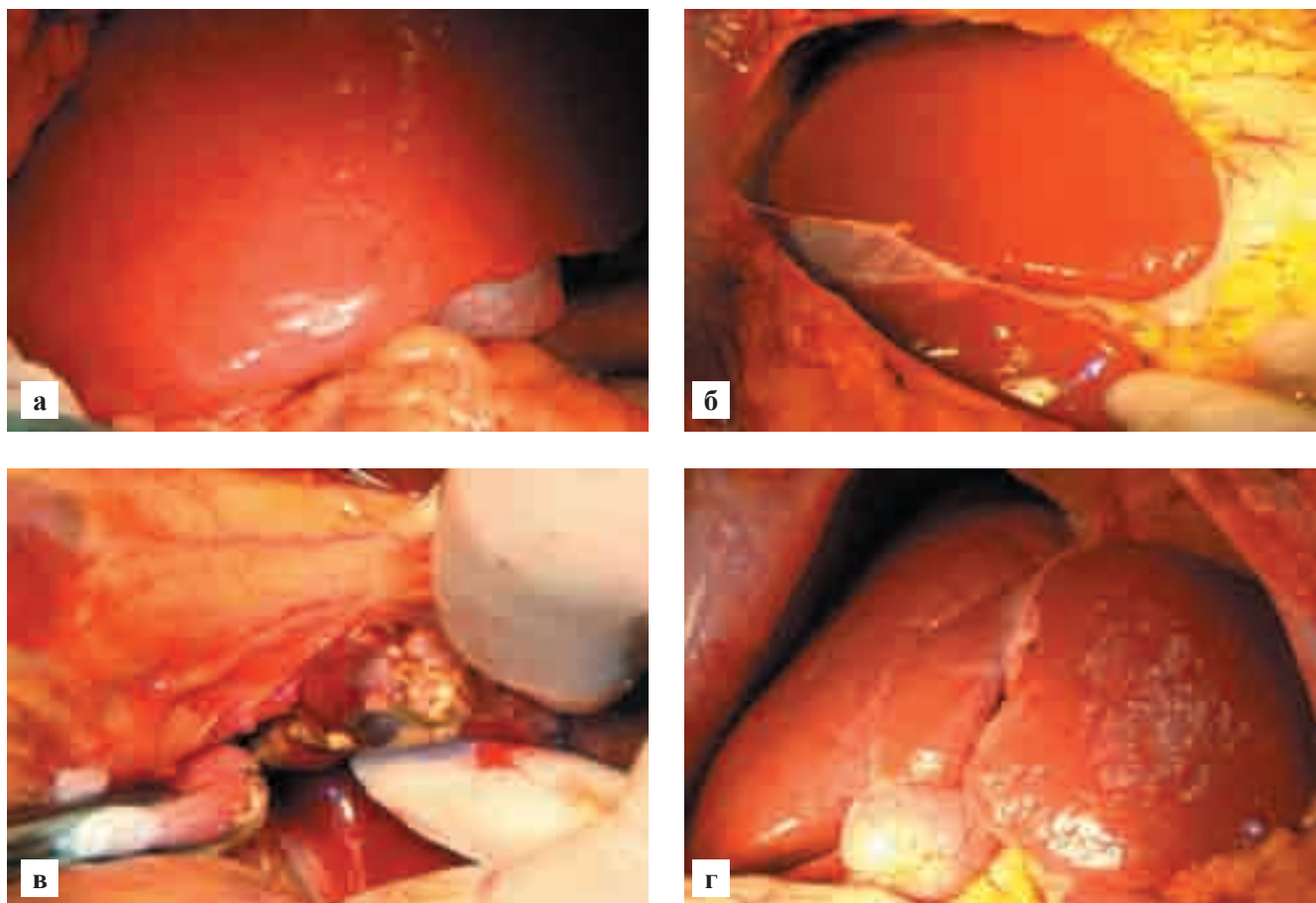


Рис. 3. Визуальная оценка трансплантатов печени (продолжение): а – субтотальный крупнокапельный стеатоз, подтвержденный морфологическими исследованиями; б – печень, идеальная по всем критериям оценки, пригодна для фрагментарной трансплантации; в – обнаружен осумкованный гнойник в малом сальнике, прилежащий к малой кривизне желудка; г – выраженный фиброз и крупнокапельный стеатоз (50% – подтвержден морфологическим исследованием)

органа (32,9%), «хорошо» – 96 (30,9%), «удовлетворительно» – 27 (8,7%) и «неудовлетворительно» – 85 трансплантатов (27,4%).

От общего пула донорских органов на основании только визуальной оценки было выбраковано 85 органов. В то же время отсроченное гистологическое исследование биоптатов печени в 31 случае (36,5%) выявило низкую и умеренную степень крупнокапельного и мелкокапельного стеатоза. Учитывая данные литературы, а также собственный опыт, полученные результаты дают нам основание считать, что больше трети донорских органов, вызывающих сомнение при визуальной оценке, можно было бы использовать для трансплантации печени при выполнении срочного морфологического исследования биоптата печени и тем самым снизить число пациентов, ожидающих трансплантацию в листе ожидания [22–24].

Биопсия позволяет получить не только качественную, но и приблизительно количественную оценку гепатоцитов, находящихся в состоянии жировой дистрофии, а также обнаружить другие повреждения (фиброз, воспалительные, ишемиче-

ские, дистрофические и некротические изменения), которые могли бы быть противопоказаниями для трансплантации [24].

В 22 наблюдениях мы использовали срочное гистологическое исследование биоптата печени для быстрой предоперационной оценки органа, когда внешний вид трансплантата печени вызывал сомнения, а в остальных случаях биопсийный материал исследовали после операции в плановом порядке.

Стеатоз гепатоцитов классифицируют как крупнокапельный и мелкокапельный. Крупнокапельный стеатоз характеризуется одним большим жировым включением в виде вакуоли в цитоплазме гепатоцита, который смещает ядро к периферии клетки. При этом варианте нарушается гистиоархитектоника печени в виде дисконфлексии трабекул. Мелкокапельный стеатоз обычно является результатом токсических или метаболических нарушений и характеризуется наличием мелких и пылевидных липидных включений в цитоплазме гепатоцита без ядерной дислокации и сохранением гистиоархитектоники печени.

Таблица 1

**Макроскопическая оценка трансплантата печени**

№ п/п	Анализируемые параметры	Характеристика	Оценка в баллах
1	Размер печени	нормальная	0
		уменьшена	0
		увеличена	0,5
2	Анатомические особенности печеночного трансплантата	отсутствие	0
		наличие	0,5
3	Характеристика капсулы	тонкая блестящая	0
		утолщенная тусклая	0,5
		шероховатая	0,5
		морщинистая	0,5
4	Цвет печени	красно-бурый	0
		вишневый	0
		бледно-желтый	0,5
		другой	0,5
5	Консистенция печени	нормальная	0
		плотная	0,5
		дряблая	0,5
6	Форма краев печени (особенно переднего края левой доли)	острые	0
		тупые	0,5
7	Отечность паренхимы печени	нет	0
		да	0,5
8	Макроскопическая оценка признаков стеатоза	< 50%	0
		> 50%	0,5
9	Поверхность печени после холодовой перфузии	блестящая	0
		тусклая	0,5
10	Качество отмывания печеночного трансплантата	отличное	0
		хорошее	0
		удовлетворительное	0,5
11	Наличие атеросклеротических бляшек на артериях печени	нет	0
		да	0,5
12	Наличие жидкости в брюшной полости	нет	0
		да	0,5

Поскольку стеатоз, по мнению ряда исследователей, оказывает существенное влияние на послеоперационную функцию трансплантата, то эту категорию мы объединили в отдельную группу из 106 случаев [5, 9, 10]. Она составила 47,1% от всей используемой донорской популяции. Трансплантаты были подвержены в той или иной степени крупнокапельной, мелкокапельной или смешанной жировой дистрофии, и их распределение представлено в табл. 3.

По характеру стеатоза гепатоцитов материал был разделен на 3 группы: А – Ккс (рис. 4, а, б, в), группа Б – Мкс (рис. 4, г, д, е.), группа В – Смс (рис. 5).

Таблица 2

**Визуальная макроскопическая оценка печеночного трансплантата**

Визуальная макроскопическая оценка трансплантата печени	Баллы	Количество доноров	
		Абс.	%
Отличная	0–1	102	32,9
Хорошая	1,5–2	96	30,9
Удовлетворительная	2,5–3	27	8,8
Неудовлетворительная	>3	85	27,5
Итого	–	310	100%

Таблица 3

**Микроскопическая оценка трансплантатов печени с разными формами стеатоза**

Характеристика видов и степени стеатоза	Количество обследованных	
	Абс.	%
А). Крупнокапельный стеатоз (Ккс), степени	28	26,4
Слабая (до 15%)	7	25,0
Умеренная (до 30%)	8	28,6
Средняя (до 60%)	4	14,3
Выраженная (>60%)	9	32,1
Б). Мелкокапельный стеатоз (Мкс), степени	38	35,8
Слабая (до 15%)	11	28,9
Умеренная (до 30%)	9	23,7
Средняя (до 60%)	9	23,7
Выраженная (>60%)	9	23,7
С). Смешанный стеатоз (Смс), степени	40	37,8
>50%	34	85
≤50%	6	15
Всего	106	100

*Примечание.* Смешанный стеатоз определяли при наличии в биоптате Ккс и Мкс, а их суммарная составляющая определялась до 50 и более 50%.

По степени стеатоза гепатоцитов материал был разделен на 4 группы: 1-я – слабая степень – до 15% гепатоцитов в состоянии жировой дистрофии; 2-я – умеренная – до 30%; 3-я – средняя – до 60% содержание жировых капель; и 4-я – выраженная – >60% (субтотальная или тотальная) [20].

Наличие Ккс отмечено в 28 наблюдениях (26,41%). Слабая степень Ккс определена у 7 доноров (6,6%), умеренная – у 9 (8,49%) и средняя степень – у 3 (2,83%). И самые выраженные повреждения – тотальный и субтотальный крупнокапельный стеатоз – обнаружены у 9 (8,49%) доноров (рис. 4, а, б, в).



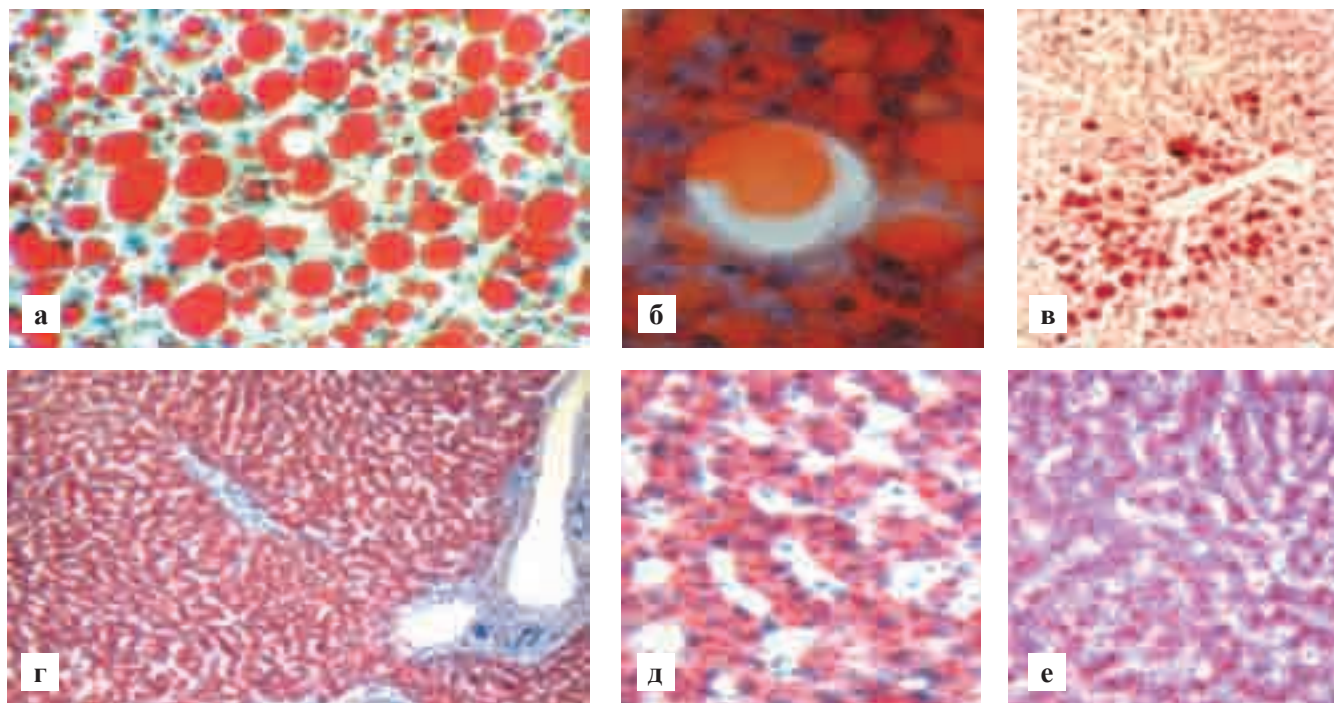


Рис. 4. Морфологическая оценка трансплантатов печени: а – крупные липидные капли в цитоплазме гепатоцитов,  $\times 200$ ; б – образование жировой кисты,  $\times 200$ ; в – очаговая крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов III зоны,  $\times 100$ ; г – диффузная мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов,  $\times 80$ ; д – мелкие липидные капли заполняют всю цитоплазму; е – очень мелкие («пылевидные») капли липидов,  $\times 200$ ; окраска красным жирным О и гематоксилином

Мкс выявлен у 38 доноров (35,86%). Слабая степень мелкокапельной жировой дистрофии небольшой группы гепатоцитов III зоны с локализацией вокруг центральных вен отмечена в 6 наблюдениях (5,66%), умеренная степень Мкс – в 9 (8,49%), средняя степень – в 10 (9,43%) и выраженная степень Мкс – в 12 наблюдениях (11,32%) (рис. 4, г, д, е).

Смешанная форма стеатоза (Смс) отмечалась в 40 наблюдениях (46,87%) и представляла сочетание крупнокапельной и мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов независимо от их процентного соотношения. Из них у 34 доноров стеатоз был очаговый и занимал площадь  $\leq 50\%$ , а у 6 доноров Смс составил  $\geq 50\%$  (рис. 5).

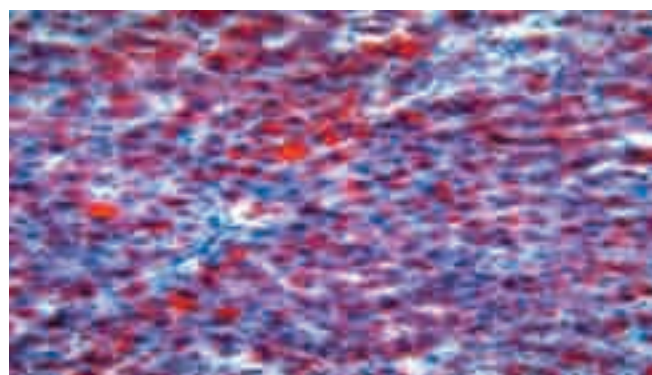


Рис. 5. Мелкокапельная и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов,  $\times 200$ ; окраска красным жирным О и гематоксилином

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Экспертная оценка, основанная на визуальном осмотре, довольно надежна при определении тяжелой степени стеатоза, но часто не в состоянии обнаружить умеренную и среднюю формы жировой дистрофии [3]. Точность макроскопической оценки при получении трансплантата, по данным этих авторов, составляет 71% для выраженного, 46% для среднего и только 17% для умеренного стеатоза. Позитивная прогнозирующая оценка нашей группы составила 65,6% при выраженном крупнокапельном стеатозе.

Несмотря на низкую позитивную прогнозирующую ценность макроскопической оценки, 50%

хирургов-трансплантологов из Великобритании никогда не используют гистологическую оценку как основную в процессе принятия своих решений о пригодности трансплантата [13]. Согласно данным UNOS в США, использование срочной биопсии проводится только в 27,8% случаев [19], что позволяет сделать предположение, что трансплантат печени, обследованный хирургами визуально, в большинстве случаев используется без контрольной биопсии. Очаговый Мкс при визуальной оценке выявить достаточно сложно. Для тотального и субтотального Мкс характерны желтоватый оттенок, закругленный край при нормальных или незначительно увеличенных размерах печени.

Биопсия представляет золотой стандарт, который позволяет получить морфологическую оценку используемого трансплантата. Однако методика окрашивания депарафинированных срезов гематоксилином и эозином очень часто приводит к высокому уровню ложно-положительных результатов из-за невозможности идентификации вакуолей в цитоплазме гепатоцитов [10, 16]. Хотя окрашивание гематоксилином и эозином имеет низкую чувствительность по сравнению со специальными красителями на липиды, но именно оно чаще всего используется во всем мире [12].

Используемая нами методика окраски замороженных срезов на липиды красным жирным О является наиболее информативной и дает точное представление о масштабе и характере жировой дистрофии печени [1, 4, 8].

Многие трансплантологи считают, что трансплантаты с мелкокапельной жировой дистрофией меньше подвержены ишемическим и реперфузионным повреждениям, а также лучше функционируют, чем Ккс. Поэтому они должны, на наш взгляд, использоваться без ограничения [6, 15, 22, 23].

Однако существует и другая точка зрения на Мкс как на тяжелый патологический процесс – митохондриальную цитопатию, возникающую при воздействии ишемических и токсических факторов [2].

Мы считаем, что биопсия важна для выявления любой формы стеатоза. При выявлении средней и умеренной степени она аргументировано дает возможность не отказываться от органа, тем самым повысить донорский пул. В спорных случаях, когда на основании визуального осмотра не удается решить вопрос о качестве органа, проведение срочного гистологического исследования печени донора позволяет хирургу принимать правильное решение. Как показали наши исследования, от каждого 10-го трансплантата мы необоснованно отказались, так как не была выполнена вовремя его гистологическая оценка.

Поэтому биопсия должна выполняться систематически, как необходимая и обязательная процедура, даже если занимает время и может продлить холеровую ишемию. Она реально может увеличить количество органов из той категории трансплантатов, которые при визуальной оценке хирургами «выбраковываются». Но морфологическое исследование необходимо выполнять в кратчайшие сроки, поскольку снижение времени холеровой ишемии при наличии стеатоза является хорошей предпосылкой снижения частоты первичной дисфункции или отсутствия функции трансплантата.

## ВЫВОДЫ

1. Привлечение доноров с расширенными критериями в связи с острым дефицитом донорских органов требует особенно тщательного отбора печени для трансплантации.
2. Самой частой и нежелательной патологией донорской печени является жировая дистрофия (стеатоз).
3. Наиболее достоверную информацию о состоянии донорской печени дает комплексная ее оценка, включающая визуальный осмотр и исследование биопсийного материала с окраской на жир.
4. Морфологическое исследование печени у 85 доноров показало необоснованный отказ от использования в качестве трансплантатов 31 (36,5%) органа. Срочная морфологическая оценка позволила бы увеличить донорский пул и количество трансплантаций на 10%.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галанкина И.Е. Патологоанатомические аспекты трансплантированных органов // Галанкина И.Е. Зимица Л.Н. Трансплантация органов и тканей в многопрофильном научном центре / Под ред. М.Ш. Хубутя. М.: Аир Атр, 2011. Гл. 13. С. 347–378.
2. Шерлок Ш., Дулит Дж. Заболевания печени и желчных путей. М.: ГЭОТАР; 1999. С. 815–840.
3. Adam R., Reynes M., Johann M. et al. The outcome of steatotic grafts in liver transplantation // *Transplant Proc.* 1991. Vol. 23. P. 1538–1539.
4. Donnelly K.L., Smith C.I., Schwarzenberg S.J. et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease // *J. Clin. Invest.* 2005. Vol. 115. P. 1343–1351.
5. Feng S., Goodrich N.P., Bragg-Gresham J.L. et al. Characteristics associated with liver graft failure: The concept of a donor risk index // *Am. J. Transplant.* 2006. Vol. 6. P. 783–790.
6. Fishbein T.M., Fiel M.I., Emre S. et al. Use of livers with microvesicular fat safely expands the donor pool // *Transplantation.* 1997. Vol. 64. P. 248–251.
7. Frankel W.L., Tranovich J.G., Salter L. et al. The optimal number of donor biopsy sites to evaluate liver histology for transplantation // *Liver Transpl.* 2002. Vol. 8. P. 1044–1050.
8. Fromenty B., Pessayre D. Inhibition of mitochondrial betaoxidation as a mechanism of hepatotoxicity // *Pharmacol Ther.* 1995. Vol. 67. P. 101–154.
9. Durand F., John F. Renz., Alkofer B. et al. Report of the Paris Consensus Meeting on Expanded Criteria Donors in Liver Transplantation // *Liver transplantation.* 2008. Vol. 14. P. 1694–1707.

10. Garcia Urena M.A., Colina Ruiz-Delgado F., Moreno Gonzalez E. et al. Hepatic steatosis in liver transplant donors: common feature of donor population? // *World J. Surg.* 1998. Vol. 22. P. 837–844.
11. Hoofnagle J.H., Lombardero M., Zetterman R.K. et al. Donor age and outcome of liver transplantation // *Hepatology.* 1996. Vol. 24. P. 89–96.
12. Imber C.J., Peter S.D., Handa A., Friend P.J. Hepatic Steatosis and Its Relationship to Transplantation // *Liver Transplantation.* 2002. Vol. 8. P. 415–423.
13. Imber C.J., St Peter S.D., Lopez I. et al. Current practice regarding the use of fatty livers: a trans-Atlantic survey // *Liver Transplantation.* 2002. Vol. 8. P. 545–550.
14. Loinaz C., Gonzalez E.M. Marginal donors in liver transplantation // *Hepatology.* 2000. Vol. 47. P. 256–263.
15. McCormack L., Petrowsky H., Jochum W. et al. Use of severely steatotic grafts in liver transplantation: a matched case-control study // *Ann Surg.* 2007. Vol. 246. P. 940–946; discussion 946–948.
16. Markin R.S., Wisecarver J.L., Radio S.J. et al. Frozen section evaluation of donor livers before transplantation // *Transplantation.* 1993. Vol. 56. P. 1403–1409.
17. Mackersie R.C., Bronsther O.L., Shackford S.R. Organ procurement in patients with fatal head injuries. The fate of the potential donor // *Ann Surg.* 1991. Vol. 213. P. 143–150.
18. Miller C., Mazzaferro V., Makowka L. et al. Rapid flush technique for donor hepatectomy: Safety and efficacy of an improved method of liver recovery for transplantation // *Transplant Proc.* 1988. Vol. 20. Suppl. 1. P. 948–950.
19. Nocito A., El-Bardy A.M., Clavien P.A. When is steatosis too much for transplantation? // *J. Hepatol.* 2006. Vol. 45. P. 494–499.
20. Verran D., Kusyk T., Painter D. et al. Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation // *Liver Transplant.* 2003. Vol. 9. P. 500–505.
21. Starzl T.E., Miller C.M., Bronznick B., Makowka L. An improved technique for multiple organ harvesting // *Surg. Gynecol. Obst.* 1987. Vol. 165. P. 343–348.
22. Urena M.A., Ruiz-Delgado F.C., Gonzalez E.M. et al. Assessing risk of the use of livers with macro and microsteatosis in a liver transplant program // *Transplant Proc.* 1998. Vol. 30. P. 3288–3291.
23. Urena M.A., Moreno Gonzalez E. et al. An approach to the rational use of steatotic donor livers in liver transplantation // *Hepatology.* 1999. Vol. 46. P. 1164–1173.
24. Wong V.S., Dwight D.G., Palmer C.R., Alexander G.L. Fibrosis and other histological features in chronic hepatitis C virus infection: a statistical model // *J. Clin. Pathol.* 1996. Vol. 49. P. 465–469.

## ИНСУЛИНОПОДОБНЫЙ ФАКТОР РОСТА-1 ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ С ВРОЖДЕННЫМИ И НАСЛЕДСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ

Шевченко О.П.<sup>1</sup>, Цирульникова О.М.<sup>1</sup>, Бугров А.В.<sup>2</sup>, Лурье Ю.Э.<sup>1</sup>, Цирульникова И.Е.<sup>1</sup>, Мнацаканян Д.С.<sup>1</sup>, Гичкун О.Е.<sup>1,2</sup>, Готье С.В.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

<sup>2</sup> ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздравсоцразвития России, г. Москва

Исследован уровень общего и свободного инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1) у 53 детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы до трансплантации, через месяц и через год после родственной ортотопической трансплантации печени. Установлено, что у детей раннего возраста (от 3 до 36 мес.), страдающих циррозом печени, концентрация общего и свободного ИФР-1 ниже, чем у здоровых детей, при повышенном уровне связанного с беременностью протеина плазмы А (РАРР-А), увеличивающего биодоступность свободного ИФР-1. Через месяц после трансплантации печени отмечалось увеличение уровня общего и свободного ИФР-1, через год после операции уровни исследуемых показателей не отличались от таковых у здоровых детей при нормализации концентрации РАРР-А. Увеличение уровня общего и свободного ИФР-1 после трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы может иметь значение для восстановления гормональной регуляции роста, анаболических и репаративных процессов, нормального физического развития детей – реципиентов печени.

*Ключевые слова:* инсулиноподобный фактор роста-1, цирроз печени, трансплантация печени.

## INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1 AFTER ORTHOTOPIC LIVER TRANSPLANTATION IN CHILDREN WITH CONGENITAL AND HEREDITARY DISEASES OF HEPATOBILIARY SYSTEM

Shevchenko O.P.<sup>1</sup>, Tsiurulnikova O.M.<sup>1</sup>, Bougrov A.V.<sup>2</sup>, Lourie Y.E.<sup>1</sup>, Tsiurulnikova I.E.<sup>1</sup>, Mnatsakanyan D.S.<sup>1</sup>, Gichkun O.E.<sup>1,2</sup>, Gautier S.V.<sup>1</sup>.

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

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

The research of total and free insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in 53 children with with congenital and hereditary diseases of hepatobiliary system was performed before liver transplantation, a month and a year after liver transplantation. Data of our research work revealed reliable decrease of total and free IGF-1 serum concentrations in children with liver cirrhosis and controversy increase of PAPP-A, which regulates IGF-1 bioavailability. In a month after orthotopic liver transplantation the level of both fractions of IGF-1 restored. A year later concentrations of total and free IGF-1, and PAPP-A remained at normal rates. Increase of total and free IGF-1 after liver transplantation may contribute to restoration of endocrine regulation of growth, reparative and anabolic processes, and normal physical development of children.

*Key words:* insulin-like growth factor-1, liver cirrhosis, liver transplantation.

Статья поступила в редакцию 10.01.12 г.

**Контакты:** Шевченко Ольга Павловна, профессор, зам. директора по научной работе.

Тел. 8 963 644 96 00, e-mail: transplant.2009@mail.ru

В печени синтезируется 95% инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1), циркулирующего в системном кровотоке [1]. Этот гормон принимает участие в регуляции роста у детей, поскольку является основным посредником анаболических и митогенных эффектов гормона роста. В клинической практике ИФР-1 применяется при обследовании больных с нарушениями роста [1, 12]. Однако возможности применения ИФР-1 как прогностического и диагностического маркера активно изучаются при многих других заболеваниях ввиду плейотропности действия этого гормона [4, 7]. На пара- и аутокринном уровне ИФР-1 выступает как фактор роста, регулирующий клеточную пролиферацию и регенерацию тканей, а также проявляющий антиапоптотический эффект. Известно, что при остром вирусном гепатите в ткани печени повышается содержание рецепторов к ИФР-1 и увеличивается концентрация ИФР-1 в плазме [16]. То же самое наблюдается после трансплантации печени и после ее резекции [8, 10]. В экспериментальных работах показано, что ИФР-1 способен уменьшать степень ишемического-реперфузионного повреждения печени [9, 11]. Также в экспериментальных исследованиях обнаружен трофический эффект ИФР-1 на слизистую кишечника, уменьшение транслокации кишечной микрофлоры при сепсисе за счет улучшения барьерной функции кишечной стенки [17]. Помимо эндокринных эффектов, ИФР-1 проявляет свойства неспецифического иммуномодулятора. Так, известно, что ИФР-1 стимулирует лимфопоз, синтез иммуноглобулинов, дифференцировку Т-клеток [14, 15]. В то же время сниженный уровень ИФР-1, наблюдающийся при ряде заболеваний, сопровождается состоянием иммунодепрессии [13, 18]. Это важно учитывать в оценке состояния детей, которым планируется выполнение трансплантации печени, поскольку подбор иммуносупрессивной терапии зависит от исходного иммунологического статуса реципиента, в том числе и неспецифической иммунодепрессии [3, 5]. Для гладкого течения раннего посттрансплантационного периода важно сохранение резистентности к инфекционным агентам, учитывая необходимость назначения иммуносупрессивной терапии, включающей кортикостероиды; в отдаленном периоде важно обеспечение нормального физического развития и роста детей – реципиентов печени [2, 3, 5]. Это делает целесообразным исследование динамики уровня ИФР-1 после трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы [20].

Инсулиноподобный фактор роста-1 циркулирует в связанной с сывороточными белками-переносчиками форме, поэтому выделяют две

фракции гормона – общий и свободный ИФР-1 [12]. Уровень ИФР-1 в крови детей достаточно стабилен, он постепенно увеличивается с возрастом, достигая максимума в пубертатный период. Референтные значения концентрации ИФР-1 в плазме для детей в возрасте от 1 года до трех лет находятся в пределах от 55 до 300 мкг/л [12]. Уровень общего ИФР-1 зависит от активности соматотрофных клеток гипофиза, секретирующих гормон роста, и отражает синтетическую функцию печени, а уровень свободного ИФР-1 зависит от интенсивности протеолиза третичного комплекса молекулы ИФР-1 [12], т. е. от активности специфических протеаз белков-переносчиков ИФР-1 [6]. Считается, что повышение активности протеаз приводит к снижению аффинности белков-переносчиков к ИФР-1 и увеличению биодоступности его свободной формы [6]. Протеазы белков-переносчиков ИФР-1 активируются в ответ на стресс, в том числе операционный, а также при остром повреждении какого-либо органа различной этиологии (инфекционном, токсическом, травматическом) [6, 7, 11].

Целью исследования является изучение динамики общего и свободного ИФР-1, у детей – реципиентов трансплантата печени.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 53 ребенка в возрасте от 3 до 36 ( $19,5 \pm 16,5$ ) месяцев, 29 мальчиков и 24 девочки. Этиология цирроза печени включала следующие заболевания: атрезия желчевыводящих путей ( $n = 34$ ), гипоплазия желчевыводящих путей ( $n = 7$  чел.), синдром Алажилля ( $n = 4$ ), болезнь Байлера ( $n = 7$ ), тирозинемия ( $n = 1$ ). Контрольная группа состояла из 17 детей в возрасте от 6 до 36 ( $21 \pm 15$ ) месяцев, 10 мальчиков и 7 девочек, обследованных после лечения дисбактериоза, с антропометрическими показателями (рост, вес) в диапазоне нормальных возрастных колебаний (25–75-й перцентиль) [19].

В качестве материала для исследования использована плазма крови, взятая до трансплантации печени, на 30-е и 360-е сутки после операции. Определение инсулиноподобного фактора роста-1 производили иммуноферментным «сэндвич»-методом, основанным на использовании поликлональных овечьих антител, сорбированных на лунках микропланшета (твердая фаза или «захватывающие» антитела), и моноклональных анти-IGF-1-антител (IDS Ltd. OSTEIA® IGF-1). Дополнительно определялся свободный ИФР-1 иммуноферментным методом ELISA («Diagnostic System Laboratory», США) и протеин-А, ассоциированный с беременностью (PAPP-A), иммуноферментным методом ELISA («Beckman Coulter», США).

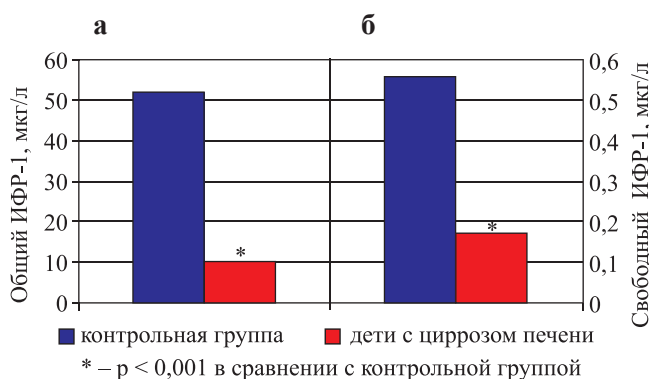


Рис. 1. Уровень общего (а) и свободного (б) ИФР-1 у детей с циррозом печени и в группе сравнения

### РЕЗУЛЬТАТЫ

У детей с врожденными заболеваниями печени и желчевыводящих путей уровень общего и свободного ИФР-1 до операции был достоверно ниже, чем в контрольной группе ( $10,3 \pm 20,5$  и  $0,17 \pm 0,1$  мкг/л соответственно в группе с циррозом печени и  $52,17 \pm 26,32$  и  $0,56 \pm 0,28$  мкг/л соответственно в контрольной группе,  $p < 0,001$ ) (рис. 1).

Была выявлена высокая прямая корреляция между уровнем общего и свободного ИФР-1 в группе детей с циррозом печени ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,001$ ) и в контрольной группе ( $r = 0,65$ ;  $p = 0,008$ ).

Концентрация РАРР-А в группе детей с циррозом печени ( $170,2 \pm 102,3$  мМЕ/л) была выше концентрации РАРР-А в контрольной группе ( $90,62 \pm 19,22$  мМЕ/л,  $p = 0,023$ ).

В группе детей с циррозом печени концентрация РАРР-А не коррелировала ни с уровнем общего ИФР-1 ( $r = 0,12$ ;  $p = 0,5$ ), ни с уровнем свободного ИФР-1 ( $r = -0,01$ ;  $p = 0,95$ ). В контрольной группе была выявлена недостоверная слабая корреляция между концентрацией РАРР-А и уровнем свободного ИФР-1 ( $r = 0,45$ ;  $p = 0,1$ ), корреляции между концентрацией РАРР-А и уровнем общего ИФР-1 не было обнаружено ( $r = 0,15$ ;  $p = 0,5$ ).

Через месяц после родственной ортотопической трансплантации части печени отмечалось достоверное повышение уровня общего и свободного ИФР-1 по сравнению с уровнем данных показателей до операции: концентрация общего ИФР-1 через месяц после операции составила  $88,88 \pm 59,13$  мкг/л ( $p < 0,001$ ), свободного ИФР-1 –  $0,59 \pm 0,28$  мкг/л ( $p < 0,001$ ). Таким образом, концентрация свободного ИФР-1 у детей через месяц после трансплантации печени не отличалась от уровня данных показателей в контрольной группе ( $p = 0,77$ ), а концентрация общего ИФР-1 у детей через месяц после трансплантации печени была выше, чем в контрольной группе ( $p = 0,015$ ) (рис. 2).

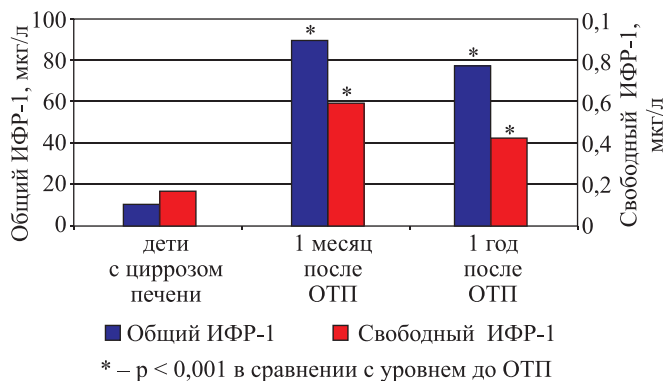


Рис. 2. Динамика общего и свободного ИФР-1 после ортотопической трансплантации печени (ОТП) у детей раннего возраста

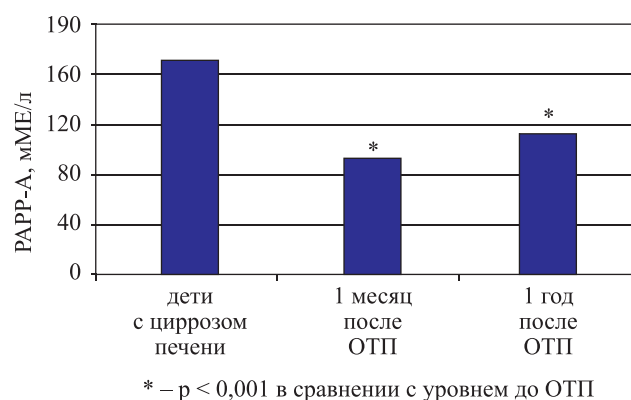


Рис. 3. Динамика РАРР-А у детей после ортотопической трансплантации печени (ОТП)

Через месяц после трансплантации печени в исследуемой группе детей отмечена прямая корреляция между уровнем свободного и общего ИФР-1 ( $r = 0,64$ ;  $p = 0,007$ ).

Концентрация РАРР-А у детей через 1 месяц после трансплантации печени составила  $109 \pm 49,49$  мМЕ/л, что достоверно ниже данного показателя до операции ( $170,7 \pm 102,3$  мМЕ/л,  $p < 0,001$ ) и сопоставимо с уровнем РАРР-А в контрольной группе ( $107,2 \pm 32,7$  мМЕ/л,  $p = 0,8$ ) (рис. 3). Выявлена достоверная прямая корреляция между уровнем свободного ИФР-1 и концентрацией РАРР-А на 30-е сутки после трансплантации печени ( $r = 0,83$ ;  $p < 0,001$ ). Уровень общего ИФР-1 не коррелирует с концентрацией РАРР-А на 30-е сутки после операции.

Через год после трансплантации печени уровень общего ИФР-1 составил  $77,41 \pm 45,18$  мкг/л, уровень свободного ИФР-1 –  $0,42 \pm 0,2$  мкг/л, концентрация РАРР-А –  $112,7 \pm 56,55$  мМЕ/л (рис. 2, 3). Достоверных отличий вышеперечисленных показателей у детей через год после трансплантации печени и в контрольной группе обнаружено не было.

Анализ антропометрических параметров 53 детей, страдающих циррозом печени в исходе врож-

денных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы, показал, что у 9 детей рост соответствовал  $< -2$  SDS ( $< 3$ -го перцентиля), у 29 детей –  $< -1$  SDS ( $< 25$ -го перцентиля); у 15 детей рост находился в диапазоне нормальных возрастных колебаний (25–75-й перцентиль). Масса тела у 11 детей соответствовала  $< -2$  SDS ( $< 3$ -го перцентиля), у 23 детей  $< -1$  SDS ( $< 25$ -го перцентиля), у 19 детей находилась в диапазоне нормальных возрастных колебаний (25–75-й перцентиль). Через год после трансплантации печени антропометрические показатели находились в диапазоне 25–75-го перцентилей (SDS  $-1$ ; SDS $+1$ ) у 47 детей, и в диапазоне 3–25-го перцентилей (SDS $-1$ ) у 6 детей.

Результаты проведенного исследования позволяют сделать следующие заключения. У детей раннего возраста с врожденными заболеваниями печени и желчевыводящих путей отмечается сниженный уровень общего ИФР-1 и свободного ИФР-1. При этом концентрация PAPP-A, регулирующего биодоступность свободного ИФР-1, наоборот, повышена, что, вероятно, может объясняться компенсаторным механизмом поддержания пула свободного ИФР-1 на фоне сниженного его синтеза печенью. Трансплантация печени сопровождается восстановлением уровня общего и свободного ИФР-1 через месяц после операции. Повышение уровня общего ИФР-1 в раннем посттрансплантационном периоде может быть связано с механизмами ауторегуляции регенерации трансплантата печени. Наличие высокой корреляции между уровнем свободного ИФР-1 и концентрацией PAPP-A спустя месяц после трансплантации печени свидетельствует о восстановлении регуляции биодоступности свободного ИФР-1. Через год после трансплантации печени концентрация общего и свободного ИФР-1 находится в пределах нормальных возрастных вариаций, что согласуется со значительным улучшением антропометрических показателей детей – реципиентов трансплантата печени.

Увеличение уровня свободного и общего ИФР-1 после трансплантации печени играет важную роль в восстановлении нарушенной гормональной регуляции роста, анаболических и репаративных процессов, что важно для благополучного течения послеоперационного периода, сохранения неспецифической резистентности иммунной системы к инфекционным агентам и нормального физического развития детей – реципиентов трансплантата печени.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Петеркова В.А. Соматотропная недостаточность. М., 1998. 302 с.
2. Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени: Руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 248 с.
3. Готье С.В., Цирульникова О.М., Габриэлян Н.И., Лурье Ю.Э. Инфекционные осложнения после трансплантации печени. Инфекции в трансплантологии / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2010. С. 13–53.
4. Лурье Ю.Э. Инсулиноподобный фактор роста-1 // Лаборатория. 2011. № 4. С. 3–6.
5. Цирульникова О.М., Лурье Ю.Э., Цирульникова И.Е. Особенности иммуносупрессивной терапии у детей. Иммуносупрессивная терапия у детей при трансплантации печени. Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов / Под ред. С.В. Готье. М.–Тверь: Триада, 2011. С. 273–337.
6. Шевченко А.О., Слесарева Ю.С., Шевченко О.П. Лабораторная диагностика повреждения атеросклеротической бляшки у больных ишемической болезнью сердца: PAPP-A // Клиническая лабораторная диагностика. 2011. № 5. С. 3–10.
7. Bierbrauer J., Weber-Carstens S. Insulin resistance and protein catabolism in critically ill patients. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2011 Apr. Vol. 46 (4). P. 268–274.
8. De Palo E.F., Bassanello M., Lancerin F. et al. GH/IGF system, cirrhosis and liver transplantation // *Clin. Chim. Acta.* 2001 Aug 1. Vol. 310 (1). P. 31–37.
9. Hunninghake G.W., Doerschug K.C., Nymon A.B. et al. Insulin-like growth factor-1 levels contribute to the development of bacterial translocation in sepsis // *Am. J. Respir Crit. Med.* 2010. Aug 15. Vol. 182 (4). P. 517–525.
10. Inaba T., Saito H., Inoue T., Han I., Furukawa S., Matsuda T. et al. Growth hormone/insulin-like factor I axis alterations contribute to disturbed protein metabolism in cirrhosis patients after hepatectomy // *J. Hepatol.* 1999. Vol. 31. P. 271–276.
11. Kawai M., Harada N., Takeyama H., Okajima K. Neutrophil elastase contributes to the development of ischemia/reperfusion-induced liver injury by decreasing the production of insulin-like growth factor-I in rats // *Transl. Res.* 2010 Jun. Vol. 155 (6). P. 294–304.
12. Leung K.C., Ho K.K. Measurement of growth hormone, insulin-like growth factor I and their binding proteins: the clinical aspects // *Clin. Chim. Acta.* 2001 Nov. Vol. 313 (1–2). P. 119–123.
13. Mukherjee A., Helbert M., Davis J., Shalet S. Immune function in hypopituitarism: time to reconsider? // *Clin. Endocrinol (Oxf).* 2010 Oct. Vol. 73 (4). P. 425–431.
14. Robbins K., McCabe S., Scheiner T. Immunological effects of insulin-like growth factor-I-enhancement of immunoglobulin synthesis // *Clin. Exp. Immunol.* 1994 Feb. Vol. 95 (2). P. 337–342.
15. Clark R., Strasser J., McCabe S. Insulin-like growth factor-1 stimulation of lymphopoiesis // *J. Clin. Invest.* 1993. Vol. 92 (2). P. 540–548.
16. Stefano J.T., Correa-Giannella M.L., Ribeiro C.M. et al. Increased hepatic expression of insulin-like growth factor-I receptor in chronic hepatitis C // *World J. Gastroenterol.* 2006 Jun 28. Vol. 12 (24). P. 3821–3828.

17. *Sukhotnik I., Siplovich L., Michael M.* Peptide Growth Factors and Intestinal Adaptation in Short Bowel Syndrome. IMAJ . Vol 5 . March 2003.
18. *Van Bilsen K., Driessen G.J., de Paus R.A. et al.* Low level IGF-1 and common variable immune deficiency: an unusual combination // Neth. J. Med. 2008 Oct. Vol. 66 (9). P. 368–372.
19. *Who Child Growth Standarts: Methods and Development: Length / heigth-for-age, weigth-for-age, weigth-for-length, weigth-for-heigth and body mass index-for-age.* Acta Paediatrica Supplement. 2006. Vol. 95. P. 5–101.
20. *Wu Y.L., Ye J., Zhang S., Zhong J., Xi R.P.* Clinical significance of serum IGF-I, IGF-II, IGFBP3 in liver cirrhosis // World J. Gastroenterol. 2004. Vol. 10. P. 2740–2743.



## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПЕЧЕНИ В КРАСНОДАРЕ: ПЕРВЫЙ ОПЫТ

Попов А.Ю., Лищенко А.Н., Давыденко М.Н., Завражнов А.А., Порханов В.А.

ГБУЗ «Краснодарская краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского», г. Краснодар

За период с апреля 2010-го по декабрь 2011 года в нашей клинике было выполнено 35 ортотопических трансплантаций целой трупной печени. Показанием к операции были циррозы печени различной этиологии: 6 – аутоиммунной, 5 – первичный билиарный цирроз, 2 – токсической, 4 – неуточненной, 18 – вирусной, два из которых с исходом в гепатоцеллюлярную карциному. Канальный анастомоз преимущественно формировали «конец в бок». В пяти случаях для увеличения артериальной перфузии трансплантата мы перевязывали селезеночную артерию. Хирургические осложнения в раннем послеоперационном периоде отмечали у 4 больных (11,4 %). В отдаленном периоде наблюдали стриктуры холедоха у 4 пациентов (11,4 %). Умерло 2 пациента (5,7%): один на шестые сутки вследствие внутриворотной портальной тромбоза, другой через 6 месяцев с рецидивом аутоиммунного цирроза и гуморальным отторжением трансплантата.

*Ключевые слова:* трансплантация печени, тромбоз воротной вены, билиарные осложнения.

## LIVER TRANSPLANTATION IN KRASNODAR: FIRST RESULTS

Popov A.Y., Lischenko A.N., Davydenko M.N., Zavrazhnov A.A., Porhanov V.A.

Krasnodar Regional Hospital № 1 prof. S.V. Ochapovskiy, Krasnodar

Since April 2010 to December 2011 were performed 35 orthotopic transplantations of cadaveric whole liver. The indication for surgery was liver cirrhosis of different etiologies: 6 – autoimmune, 5 – primary biliary cirrhosis, 2 – toxic, 4 – unspecified, 18 – virus, two of which with the outcome in hepatocellular carcinoma. Caval anastomosis formed mainly «end-to-side». In five cases, to increase the arterial perfusion of the graft, we ligated the splenic artery. Surgical complications in the early postoperative period were seen in 4 patients (11.4%). In the late period we observed stricture of bile duct in 4 patients (11.4%). In their treatment we used various combinations of minimally invasive and open surgical procedures. 2 patients died (5.7%) – one of them on the sixth day because of intrahepatic portal vein thrombosis, another one in 6 months with a recurrence of autoimmune cirrhosis and humoral graft rejection.

*Key words:* liver transplantation, portal vein thrombosis, biliary complications.

Трансплантация печени показана при заболеваниях печени в терминальной стадии, когда по прогнозу продолжительность жизни составляет 1 год и менее, а также в тех случаях, когда заболевание печени значительно снижает качество жизни больного и его трудоспособность и другого альтернативного метода лечения не имеется [1, 2, 6–8]. В таких условиях трансплантация печени является единственной радикальной мерой [3]. До недавнего времени жители Краснодарского края не имели возможности излечения в подобных ситуациях. Серьезным препятствием развитию трансплантологии является нехватка донорских органов. Среди при-

чин этого явления – непонимание и невежественный негативизм не только населения, но и некоторых медицинских работников к проблеме посмертного донорства. Следует отметить и недостаточно задействованный административный ресурс по организации единой координационной системы по органному донорству [2, 4].

В Краснодарской краевой клинической больнице № 1 была проведена многоплановая предварительная подготовка. Она включала проработку юридических основ трансплантологии, установочные совещания с районными руководителями здравоохранения. Создан лист ожидания транспланта-

*Статья поступила в редакцию 12.12.11 г.*

**Контакты:** Попов Арсен Юрьевич, заведующий хирургическим отделением № 1 ККБ № 1.

**Тел.** +7 (918) 37 55 715.

ции печени. В клинике организован центр органно-го донорства. К этому моменту был накоплен опыт операций на печени, хирургами освоен сосудистый шов, навыки отработаны в отделении патоморфологии, виварии. Бригада специалистов прошла обучение в ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова. С апреля 2010-го по декабрь 2011 г. в Краснодарской краевой клинической больнице № 1 выполнено 35 ортотопических трансплантаций целой трупной печени (ОТП). Показанием к операции были циррозы печени различной этиологии: 6 – аутоиммунной, 5 – первичный билиарный цирроз (ПБЦ), 2 – токсической, 4 – неуточненной, 18 – вирусной, два из которых с исходом в гепатоцеллюлярную карциному (рис. 1). Средний возраст реципиентов составил  $47,5 \pm 9,8$  года, среди них 17 мужчин.

До операции проводили стандартный комплекс обследования и предоперационной подготовки [5]. Во время операции использовали операционный фен, выполняли общий и биохимический анализы и кислотно-щелочное состояние крови. Инфузионную терапию проводили, ориентируясь на центральную гемодинамику и инвазивный мониторинг артериального и центрального венозного давления.

Кавальный анастомоз преимущественно формировали «конец в бок», используя верхний край нижней полой вены донорской печени. Нижний край ушивали. В двух случаях столкнулись с выраженным фиброзным процессом в области нижней полой вены и гипертрофией 1-го сегмента, потребовавших выполнения операции по классической методике. При этом беспеченочный период длился 48 и 69 минут.

В пяти случаях на компьютерной ангиографической реконструкции у реципиентов обнаруживали сужение основания чревного ствола. Интраоперационно был выявлен периартериальный фиброз, разделение которого восстанавливало просвет артериального русла. Однако для профилактики повторного сужения чревного ствола после операции мы перевязывали селезеночную артерию. Как показали наблюдения после лечения, несмотря на перевязку селезеночной артерии, кровотоков в ней сохранялся достаточным за счет коллатералей из бассейна желудочно-сальниковых и панкреатических ветвей.

В одном случае пришлось использовать артериальный кондуит в связи с отхождением общей печеночной артерии трансплантата от верхней брыжечной артерии.

Одной пациентке выполнена ретрансплантация печени по поводу вирусного гепатита С трансплантата с трансформацией в цирроз, который сформировался за короткий период (6 месяцев).

Интраоперационная кровопотеря составила  $1206 \pm 720$  мл, из которых вернули в качестве пер-

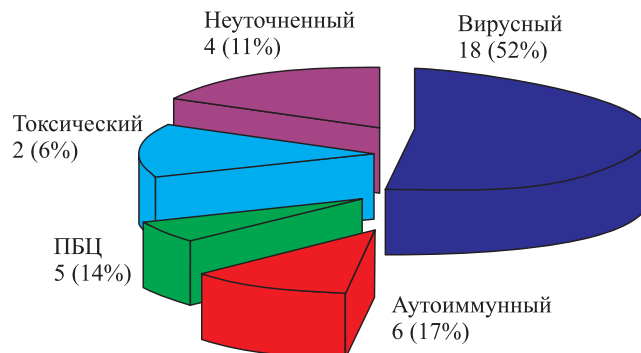


Рис. 1. Этиология циррозов печени

фузата  $688 \pm 478$  мл. Донорскую эритроцитарную массу потребовалось использовать только в 13 случаях (40,6%), объем трансфузии  $645 \pm 290$  мл. Свежезамороженную плазму переливали во всех случаях, дозировка –  $1973 \pm 699$  мл. Средняя длительность операции  $6 \text{ ч } 55 \text{ мин } \pm 65 \text{ мин}$ .

Хирургические осложнения в раннем послеоперационном периоде отмечали у 4 больных (11,4%) (табл.). При этом у одной пациентки столкнулись с несколькими осложнениями.

Таблица

**Выявленные осложнения**

Вид осложнения	Характер осложнения	Количество	Частота, %
Ранние	Внутрибрюшное кровотечение	2	5,7
	Тромбоз воротной вены	1	2,9
	Спаечная кишечная непроходимость	1	2,9
Поздние	Стриктура холедоха	4	11,4

В двух случаях (5,7%) потребовались релапаротомии по поводу внутрибрюшного кровотечения. Во время операции выявлено диффузное кровотечение без конкретного источника на фоне коагулопатии. У одного пациента на 24-е сутки после ОТП развилась клиника острой кишечной непроходимости. Выполнена релапаротомия, устранение спаечной кишечной непроходимости.

В трех наблюдениях при дооперационном обследовании выявлен пристеночный тромбоз воротной вены. В двух случаях циррозы не были вирусными, в третьем – на фоне вирусного гепатита С. У двоих в просвете воротной вены выявлены старые тромботические массы, частично извлечены. Снятие зажима демонстрировало ослабленный турбулентный кровотоков, делая этот сегмент непригодным для безопасного использования в качестве источника портального кровотока. Поэтому сразу формировали анастомоз между верхней брыжечной или селезеночной веной и вставкой из подвздошной вены до-

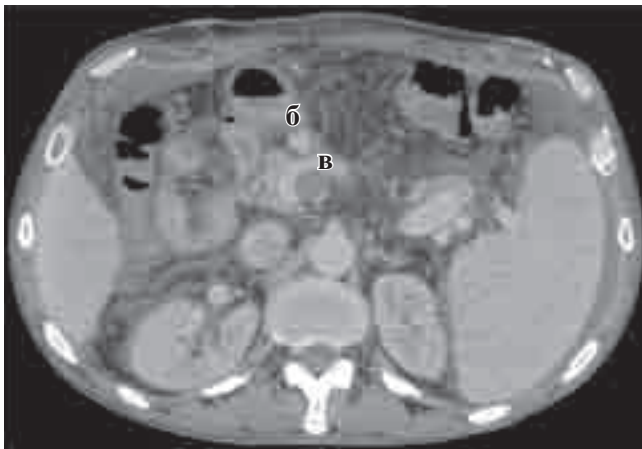
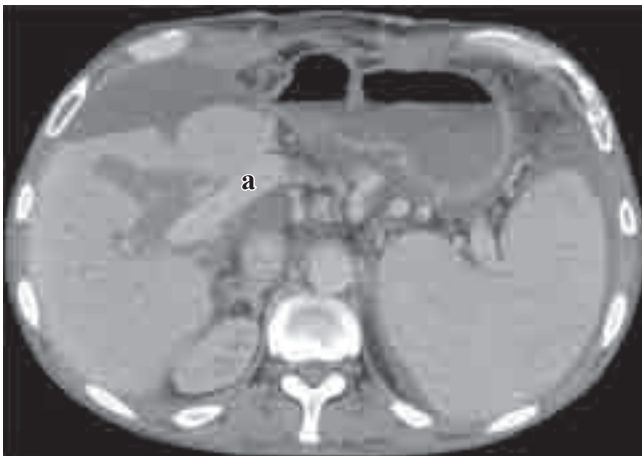


Рис. 2. Вариант портальной реконструкции при тромбозе воротной вены реципиента: а – воротная вена; б – венозный шунт; в – тромб в зоне слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен; г – анастомоз верхней брыжеечной вены и венозного шунта

нора (рис. 2). Анастомоз воротной вены с кондуитом выполнен «конец в конец». Беспеченочный период – 2 ч 3 мин и 1 ч 15 мин соответственно. Операция – 8 ч 45 мин и 9 часов. После операции артериальное и венозное кровоснабжение трансплантата удовлетворительное.

В одном случае ОТП выполнена на фоне пристеночного тромбоза воротной вены, диагностирован-

ного в предоперационном периоде. Ревизия выявила значительную спленомегалию. Воротная вена до 12 мм диаметром с утолщенными стенками. После гепатэктомии в просвете вены визуализирован пристеночный тромб, покрытый эпителием. Прецизионная тромбэктомия. Верхняя брыжеечная вена представлена фиброзным тяжем без просвета и самостоятельного кровотока. При снятии зажима с вены получен визуально достаточный струйный кровоток из ее просвета. Других тромботических масс в вене не обнаружено. Остальные реконструктивные этапы без особенностей. Беспеченочный период – 1 ч 20 мин. Операция – 6 ч 53 мин. В послеоперационном периоде в первые сутки выявлено отсутствие портального кровотока. Релапаротомия через 7 часов после трансплантации. Печень не увеличена, отечна. Петли кишечника с адекватным кровотоком за счет венозных коллатералей, жизнеспособны. С техническими трудностями из-за выраженного периваскулярного воспаления выделена зона слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен. Селезеночная вена компенсаторно дилатирована до 14 мм. Выполнено позадижелудочное впередипанкреатическое спленопортальное шунтирование венозным протезом Gortex 10. Последующие УЗИ констатировали внутripеченочный субсегментарный портальный тромбоз. Развилась острая печеночная недостаточность с последующей анурией. Проведены 3 сеанса гемодиализа и 2 MARS. Пациентка погибла на 6-е сутки после ОТП от явлений острой печеночной недостаточности.

Еще один летальный исход наступил в отдаленном периоде, через 6 месяцев после ОТП. У пациентки 61 года с аутоиммунной этиологией цирроза на фоне рецидива заболевания выявлены морфологические признаки гуморального отторжения трансплантата. Ретрансплантацию печени выполнить не удалось из-за отсутствия донорской печени. Развившаяся прогрессирующая почечно-печеночная, а затем и полиорганная недостаточность послужили причиной смерти. Все остальные пациенты после ОТП выжили. Таким образом, летальность составила 5,7%.

К поздним осложнениям отнесли стриктуры холедоха, которые наблюдали у 4 пациентов (11,4%) (табл.). В их лечении мы использовали различные комбинации малоинвазивных и открытых хирургических вмешательств. У одного пациента выполнено эндоскопическое стентирование холедоха. В двух случаях произведена чреспеченочная холангиостомия по поводу механической желтухи, после купирования которой выполнена реконструктивная операция – гепатикоэнтеростомия на отключенной по Ру петле. У одной пациентки отток желчи восстановлен с помощью чрескожно-чреспеченочного наружно-внутреннего протеза.

В послеоперационном периоде мы используем 2- и 3-компонентные схемы иммуносупрессии: сочетание ингибиторов кальциневрина, кортикостероидов и микофеноловой кислоты или мофетила микофенолата. При использовании для иммуносупрессии прографа остаточная концентрация такролимуса в первые 60 дней после трансплантации должна быть между 12 и 15 нг/мл, с 3-го по 12-й месяц – между 10 и 12 нг/мл, с 12-го месяца – между 5 и 7 нг/мл. При использовании для иммуносупрессии сандиммуна неорала остаточная концентрация циклоспорина должна быть: первые 60 дней после трансплантации – 200–300 нг/мл, с 3-го до 12-го месяца – 150–200 нг/мл, с 12-го месяца – 100–120 нг/мл. Частота наблюдения пациентов после ОТП: в 1-й месяц – каждые 7–10 дней, 2-й месяц – каждые 14 дней, в 1-й год наблюдения – ежемесячно и в последующем – каждые 3–6 месяцев. Через 3 месяца после ОТП, выполненной по поводу цирроза вирусного генеза, производили пункционную биопсию печени. В остальных случаях биопсию печени выполняли при подозрении на отторжение трансплантата.

## ВЫВОДЫ

Развитие хирургии печени, популяризация трансплантации в медицинской среде и у населения позволит значительно сократить летальность соответствующих пациентов, улучшить качество их жизни. Трансплантационная хирургия – это прежде всего хирургия сосудов. Поэтому для улучшения непосредственных и отдаленных результатов представляется весьма важной предоперационная информация о состоянии венозного и артери-

ального русла в зоне вмешательства. Это необходимо для составления плана операции, рассмотрения возможных вариантов кавальной, портальной и артериальной реконструкции. Дальнейшее накопление опыта трансплантации печени и последующего лечения позволяет разнообразить хирургические подходы и дифференцировать оперативную тактику.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессонова Е.Н. Трансплантация печени в лечении больных с терминальными стадиями болезней печени // Уральский мед. журнал. 2006. № 3. С. 2–6.
2. Ермолов А.С., Чжао А.В., Мусселиус С.Г. и др. Первый опыт трансплантации печени в НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2002. № 1. С. 38–46.
3. Ермолов А.С., Чжао А.В. Трансплантация органов – история, настоящее состояние, перспективы // Актуальные вопросы донорства и трансплантации органов: Материалы городской научно-практической конференции. Т. 163. М.: НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, 2003. С. 5–12.
4. Бессонова Е.Н., Орлов О.Г., Алферов С.Ю. и др. Трансплантация печени в Екатеринбурге: первый опыт // Трансплантология. 2009. № 2. С. 21–24.
5. Шумаков В.И. Трансплантология: Руководство. М.: МИА, 2006. С. 310–330.
6. Jain A., Reyes J., Kashyap R. et al. Longterm survival after liver transplantation in 4000 consecutive patients at a single center // Ann Surg 2000. 232 (4): 490–500.
7. Maddrey W.C., Schiff E.R., Sorrell M.F. Transplantation of the Liver. Lippincott Williams & Wilkins, 2001. P. 509.
8. Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени: Руководство для врачей. М.: МИА, 2008.

## БИОИМПЕДАНСНЫЙ АНАЛИЗ В ПРАКТИКЕ ПРОГРАММНОГО ГЕМОДИАЛИЗА: КРАТКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЙ ОПЫТ ДИАЛИЗНОГО ЦЕНТРА

*Строков А.Г., Поз Я.Л., Гаврилин В.А., Копылова Ю.В., Крышин К.Н., Кутузова А.В., Терехов В.А.*

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»  
Минздравсоцразвития России, г. Москва

В последнее десятилетие биоимпедансный анализ широко внедряется в практику программного гемодиализа как метод оценки статуса гидратации и состава тела. В течение 2 лет мы использовали устройство для биоимпедансной спектрометрии (БИС) Body Composition Monitor (Fresenius Medical Care, ФРГ). Данные БИС были достоверны у подавляющего большинства пациентов с клинически достоверно отработанным сухим весом. В сравнении со здоровыми субъектами пациенты на гемодиализе отличались экспансией только внеклеточного объема жидкости. Артериальное давление в группах пациентов с относительной гипергидратацией (ОГ – отношение междиализной гипергидратации к объему внеклеточной жидкости) <15% и >15% не различалось, однако количество применяемых антигипертензивных препаратов было выше (3,1 против 1,2) в группе ОГ > 15%. Показатель ОГ, по нашим данным, был более достоверным, чем стандартный индекс – соотношение объема гипергидратации и сухого веса пациента. Совместное применение БИС и мониторинга относительного объема крови позволяло в сжатые сроки устранять массивную гипергидратацию при подготовке пациентов к пересадке почки. Для уточнения клинической ценности показателей тощей и жировой массы тела требуются дальнейшие наблюдения.

*Ключевые слова: программный гемодиализ, гипергидратация, артериальная гипертензия, биоимпедансный анализ.*

## BIOIMPEDANCE ANALYSIS IN HAEMODIALYSIS PRACTICE: SHORT REVIEW AND SINGLE CENTER EXPERIENCE

*Strokov A.G., Poz Y.L., Gavrilin V.A., Kopylova J.V., Kryshin K.N., Kutuzova A.V., Terehov V.A.*

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

Bioimpedance analysis has been widely used to estimate a hydration state, lean and fat mass in haemodialysis patients. The aim of our study was to investigate the validity and usefulness of bioimpedance analysis in routine dialysis practice. Last two years we used the body composition monitoring (BCM, Fresenius Medical Care), method based on whole body multifrequency bioimpedance spectroscopy (BIS), compared with traditional clinical data. For BIS data verification, hydration status of 32 stable HD patients with dialysis vintage more than 3 years and clinically well established dry weight were studied. Only in three cases BIS data seems underestimated in serial measurements. Next step, 28 healthy subjects and 116 dialysis patients were studied. Total body water and extracellular volume (ECV) were significantly higher in dialysis group ( $P < 0.01$ ), and there was not any difference in intracellular volume (ICV). Mean AP was similar in patients with moderate (<15%) and massive (>15%) relative overhydration (RO = overhydration / ECV), at the same time, average number of antihypertensive medications was significantly higher in more overhydrated patients (3.1 vs 1.2). In clinical practice RO is more convenient indicator as compared to standard overhydration volume / dry weight ratio. Mutual application of the BIS and blood volume monitoring allows more rapid and safe dry weight achievement. BIS was useful tool for hydration status monitoring in routine haemodialysis practice, and further work need to be done to clarify BIS validity for nutritional status estimation.

*Key words: haemodialysis, overhydration, arterial pressure, bioimpedance analysis.*

*Статья поступила в редакцию 13.01.11 г.*

**Контакты:** Строков Александр Григорьевич, заведующий отделением гемодиализа ФНЦТЮ им. академика В.И. Шумакова.  
Тел. 8 (499)158 22 33, e-mail: medick@bk.ru

### КРАТКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Персистирующая гипергидратация является ключевым звеном в возникновении гипертрофии левого желудочка, артериальной гипертензии и высокой смертности от сердечно-сосудистой патологии у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, находящихся на лечении программным гемодиализом [17]. Соответственно, нормализация гидратации секторов организма при помощи ультрафильтрации – одна из основных задач при лечении пациентов диализом. Состояние эуволемии у диализных пациентов определяется понятием «сухой вес» [4]. До настоящего времени сухой вес определялся преимущественно на основе клинических наблюдений, несмотря на субъективность и неточность такого метода. Кроме того, отработка сухого веса методом избыточной ультрафильтрации часто приводит к осложнениям в ходе сеанса гемодиализа [7], а развивающаяся при этом интрадиализная гипотензия может быть причиной прогрессирования сердечной недостаточности [2]. Ранее были предложены разнообразные методы объективизации статуса гидратации у пациентов на диализном лечении. Это и инструментальные методики – измерение диаметра нижней полой вены с помощью ультразвукового исследования [1], определение кардиоторакального индекса, измерение внесосудистой жидкости легких, исследование динамики относительного объема крови [3], – и биохимические маркеры: концентрация предсердного и мозгового натрийуретического пептида, циклической гуаниновой монофосфатазы [12, 15]. Однако все перечисленные показатели не отличаются достаточной достоверностью, в первую очередь по той причине, что зависят они главным образом от внутрисосудистого объема, а его величина непостоянна вследствие разнонаправленного обмена жидкостью с интерстицием. Кроме того, диаметр нижней полой вены и концентрация предсердного натрийуретического пептида зависят не только от гидратации, но и от сердечной деятельности и от взаимодействия с другими гормональными системами [12].

В этой связи чрезвычайно перспективным представляется использование биоимпедансного анализа (БИА), позволяющего оценивать не только объемы внеклеточной и внутриклеточной жидкости организма, но и величины тощей и жировой массы.

Принцип БИА основан на измерении сопротивления тканей организма электрическому току [2]. При этом общее сопротивление – импеданс ( $Z$ ) – складывается из двух компонентов: активного сопротивления ( $R$ ), биологическим субстратом которого являются клеточная и внеклеточная жидкости организма, и реактивного сопротивления ( $X$ ), субстратом которого служат биологические мембраны. Сопротивление определяется резистентностью к по-

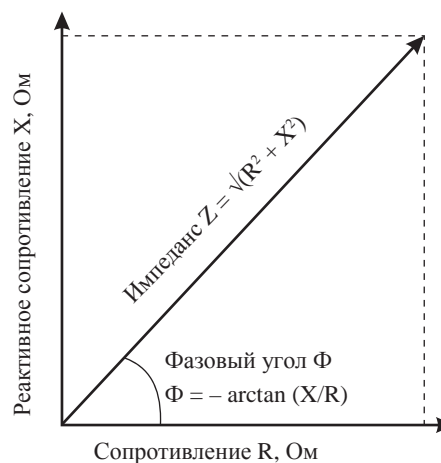


Рис. 1. Основные показатели биоимпедансного анализа

стоянному и переменному току, реактивное сопротивление – к переменному. Оба компонента импеданса зависят от степени гидратации тканей, а их соотношение определяет величину фазового угла ( $\Phi$ ) – основного показателя БИА (рис. 1). Степень гидратации тканей можно оценить по соотношению этих показателей при БИА на стандартной частоте (обычно – 50 кГц) при измерении по всей длине тела или в отдельном сегменте. Сегментарный одночастотный БИА может применяться непосредственно во время процедуры гемодиализа. В этом случае при измерении импеданса тканей, например, голени по динамике показателя можно судить о достижении состояния эуволемии и, соответственно, адекватности ультрафильтрации [9].

В биологических тканях ток низкой частоты проходит практически исключительно по внеклеточному пространству, в то время как для тока высокой частоты становится доступным и внутриклеточное пространство. Соотношение величин  $R$  и  $X$  в биологических тканях при разной частоте тока описано К. Коулом и в графическом представлении показано на рис. 2. Модель Коула используется для определения объема общей жидкости организма (ОЖ) и расчета соотношения объемов внеклеточной (ВЖ) и внутриклеточной (КЖ) жидкости при многочастотном БИА, который в данном варианте называется биоимпедансной спектрометрией (БИС). БИС также может оценивать параметры как всего тела, так и отдельных его сегментов. При этом с использованием большого количества электродов можно получать суммарные данные практически всех областей организма, что теоретически повышает достоверность измерений.

В практике диализа – программного гемодиализа и амбулаторного перитонеального диализа – объективизация сухого веса является приоритетной, но не единственной задачей БИА. С использованием различных моделей состава тела человека по величинам ОЖ, ВЖ и КЖ возможно рассчитать величину

Особенности различных методик биоимпедансного анализа [9]

Методика	Применение	Достоинства	Недостатки
Сегментарное измерение			
Одночастотный биоимпедансный анализ (БИА)	Позволяет оценить ВЖ, КЖ и мышечную массу одного сегмента тела	Относительная точность измерений в сравнении с данными магнито-резонансного исследования	Результаты зависят от эмпирической модели, что ограничивает индивидуальную достоверность
БИА на голени	Измерение на голени позволяет оценить статус гидратации в целом	Может использоваться для постоянного мониторинга, в том числе во время диализа	Необходимость изначального измерения окружности голени
Многочастотная биоимпедансная спектрометрия (БИС)	Позволяет определить ОЖ, ВЖ, КЖ и мышечную массу сегмента тела, а также суммарно в нескольких сегментах	Обеспечивает достаточную точность при определении показателей для сегмента и всего тела (суммы сегментов)	Требует большого количества электродов, результаты зависят от правильности их расположения
Измерение по всей длине тела			
Векторный БИА	Позволяет оценить степень гидратации и статус питания	Результаты представлены в виде графика R-X, просты и наглядны	Сложность интерпретации в клинических условиях
Одночастотный БИА	Оценка ОЖ, ВЖ, КЖ с использованием регрессионного анализа, состава тела – по специфической модели	Простота, дешевизна аппаратуры	Точность не удовлетворяет клиническим потребностям из-за индивидуальной вариабельности состава тела
Многочастотная БИС	Определение ОЖ, ВЖ, КЖ по модели Коула, определение состава тела по измеренным объемам жидкости	Стабильное и достаточно точное определение ОЖ, ВЖ, КЖ и мышечной массы	На точность измерений может влиять количество подкожно-жировой ткани

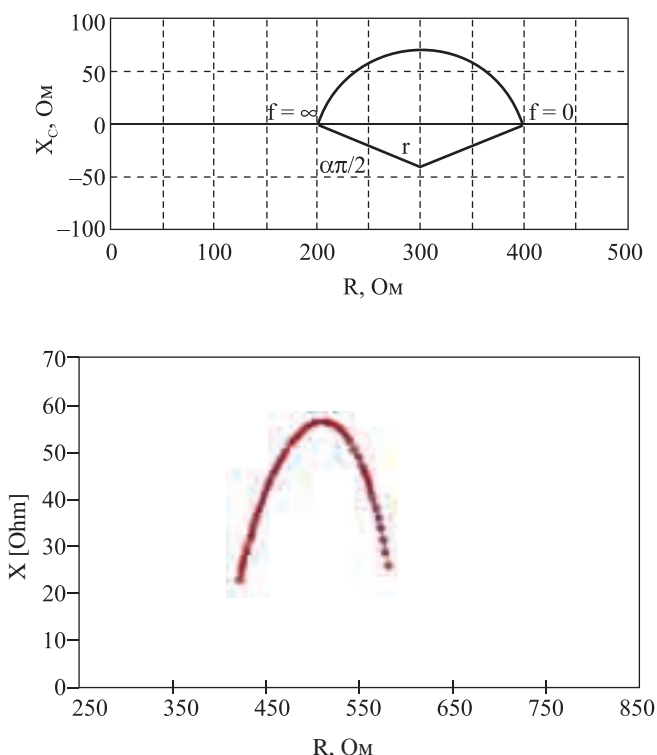


Рис. 2. Модель Коула (сверху) и ее реальное отображение при многочастотном биоимпедансном анализе (внизу). Соотношение величин сопротивления (R) и реактивного сопротивления (X) при измерении на разных частотах электрического тока

ну безжировой массы тела (БЖМ) и, соответственно, жировой массы (ЖМ), а также клеточную массу. Известно, что статус питания оказывает существенное влияние на результаты диализного лечения. При этом доступные методы оценки мышечной и жировой массы чрезвычайно трудоемки, а результаты их ненадежны. БИА может оказаться тем методом, который позволит достоверно оценивать и мониторировать эти показатели у диализных пациентов.

В табл. перечислены основные методики БИА, их преимущества и недостатки.

Современные устройства БИА выдают информацию не в виде абсолютных величин Z, R, X и Ф, которые сложны для интерпретации клиницистами, а в виде расчетных значений, полученных при обработке данных в соответствии с математической моделью, заложенной в программное обеспечение того или иного анализатора. При накоплении массива данных, касающихся той или иной популяции, при сравнении показателей БИА с результатами референсных методик и совершенствовании математического аппарата увеличивается и точность показаний устройств БИА. Очевидно, именно по этой причине БИА, внедренный в клиническую практику практически одновременно с программным гемодиализом [14], лишь в последнее десятилетие получил широкое распространение и в практике диализа.

Качество результатов БИА постоянно растет. В большом исследовании, обобщившем данные литературы за последние годы [16], показано, что данные многочастотной БИС проявляли высокую корреляцию с результатами референсных методик (дильуционных – с бромидом и дейтерием; рентгеноабсорбометрии, воздушной плетизмографии) при обследовании более 1000 здоровых субъектов, а также с высококачественной клинической оценкой у сотен диализных пациентов.

В нескольких недавних исследованиях показано, что рутинное применение БИА позволяет пересмотреть величину сухого веса у большого количества пациентов. Так, при исследовании 370 пациентов в 5 диализных центрах Германии коррекция сухого веса по результатам БИС потребовалась у 98 (26%), при этом у 5% пациентов было выявлено занижение сухого веса [13]. В другом исследовании применение БИС позволило выделить две группы пациентов: с гипергидратацией и с дегидратацией. Коррекция сухого веса позволила достоверно снизить артериальное давление и количество гипотензивных препаратов в первой группе и число эпизодов интрадиализной гипотензии во второй [11].

Немаловажна и возможность достоверной оценки величины ОЖ организма при расчете эффективности процедуры гемодиализа по показателю  $Kt/V$ . Показано, что определение объема распределения мочевины по данным БИС является более достоверным в сравнении с расчетом по формуле Watson или по данным кинетического моделирования мочевины [10].

Очевидно, что и такие параметры состава тела, как тощая и жировая масса, определенные БИС, становятся с совершенствованием метода более достоверными. В ряде исследований уже показана достаточная их корреляция с результатами принятых на сегодняшний день в качестве достоверных методик именно у гемодиализных пациентов [6, 8, 16].

Современные стандарты диализной помощи пока не рекомендуют рутинное использование БИА ни для отработки сухой массы, ни для мониторинга параметров состава тела в качестве основной методики [18]. Тем не менее в практике диализа метод получает все большее распространение.

**ОПЫТ ЦЕНТРА ДИАЛИЗА  
ФНЦ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ  
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. ШУМАКОВА**

Мы в своей практике в течение 2 лет использовали устройство для биоимпедансного анализа ВСМ («Body Composition Monitor», Fresenius Medical Care, ФРГ). В данном устройстве используется метод многочастотной БИС с частотой измерения от 5

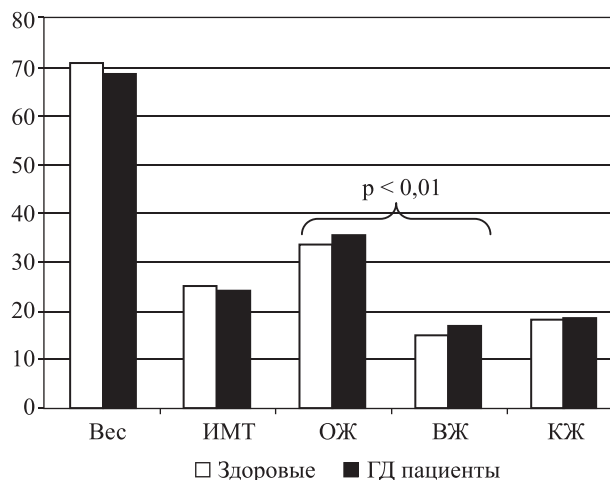


Рис. 3. Показатели гидратации секторов организма у здоровых субъектов и у пациентов на программном гемодиализе

до 1000 кГц и стандартным расположением электродов – на кисти и стопе с одной стороны. Программное обеспечение, которым оснащен прибор, разработано на основе данных, полученных не только в общей популяции, но и у большого количества диализных пациентов. Результаты измерений фиксировались в персональном компьютере при помощи специальной программы.

БИС была проведена у 28 внешне здоровых субъектов с нормальной функцией почек (16 женщин и 12 мужчин в возрасте от 22 до 65 лет) и 116 пациентов, находящихся на программном лечении гемодиализом (60 женщин и 56 мужчин в возрасте 19–72 лет со стажем диализного лечения от 0 до 308 месяцев). При этом в некоторых случаях измерения проводились неоднократно.

При сравнении данных здоровых субъектов и диализных пациентов были отмечены несколько меньшие показатели веса и индекса массы тела у последних (рис. 3). При этом количество ОЖ и ВЖ у пациентов на гемодиализе было достоверно выше ( $p < 0,01$ ), что очевидно служило проявлением преддиализной гипергидратации. Характерно, что количество КЖ у здоровых субъектов и у пациентов на диализе было в среднем одинаковым. Это наблюдение подтверждает общепринятое на сегодняшний день мнение о внеклеточном характере гипергидратации у пациентов на диализном лечении. Соотношение ВЖ/КЖ у здоровых субъектов составляло в среднем  $0,80 \pm 0,04$ ; а у диализных пациентов было достоверно выше:  $0,96 \pm 0,13$  ( $p < 0,001$ ) и нередко превышало единицу.

Величина преддиализной гипергидратации в общей группе диализных пациентов колебалась в чрезвычайно широких пределах: от – 2,3 л у пациента с недооцененным сухим весом до 16 л у пациента с выраженной гипергидратацией, соответственно, среднее значение составило  $2,77 \pm 2,03$  л.



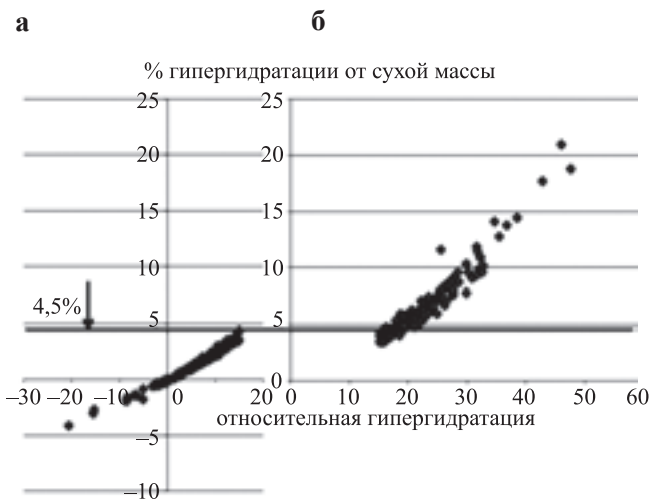


Рис. 4. Зависимость относительной гипергидратации и стандартного показателя – величины гипергидратации в процентах от сухого веса: а – относительная гипергидратация < 15%; б – относительная гипергидратация > 15%

При этом относительная гипергидратация (ОГ), то есть соотношение объема гипергидратации к объему ВЖ, составляла в среднем  $14,7 \pm 10,3\%$ . Показатель ОГ может оказаться весьма полезным в клинической практике. На сегодняшний день стандарты диализного лечения предполагают соотношение величины предиализной гипергидратации к массе тела и рекомендуют ограничивать междиализную прибавку 4,5% сухого веса пациента. Вероятно, соотношение междиализной прибавки и объема ВЖ более точно отражает предиализную перегрузку жидкостью. На рис. 4 представлена зависимость величины междиализной гипергидратации, выраженной в % сухой массы тела и ОГ (% ВЖ). Как видно из графиков, величина ОГ менее 15% (слева) гарантирует попадание пациента в допустимые по стандартной величине – 4,5% сухой массы – рамки междиализной гипергидратации. Напротив, в достаточно большом количестве случаев соблюдение этого стандартного требования не гарантирует, что величина ОГ не превысит 15% (справа). Связано это, очевидно, с тем, что простое выражение величины гипергидратации в процентах от массы тела не учитывает ни особенности состава тела пациента (такие, например, как индекс массы тела), ни даже пол пациента. Гораздо более ценным в этом смысле представляется показатель гипергидратации, оценивающий ее величину в процентах от объема ВЖ, то есть того сектора, экспансия которого и наблюдается у диализных пациентов. Достоверное влияние показателя относительной гипергидратации на результаты лечения продемонстрировано в ряде исследований [9, 17].

Корреляция между величиной среднего артериального давления (САД) и относительной гипергидратацией в общей группе диализных пациентов

была незначительной ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ). В то же время при разделении пациентов по уровню относительной гипергидратации – менее 15% или более 15% – различий в уровне САД выявлено не было:  $100 \pm 14$  и  $98 \pm 16$  мм рт. ст. соответственно. Подобное наблюдение нельзя объяснить влиянием недостаточности кровообращения, которая может извращать корреляцию величины гипергидратации и артериальной гипертензии. Для пациентов, поступающих в наш центр с целью трансплантации почки, подобное осложнение не было универсальным. Скорее влияние оказывала мощная гипотензивная терапия, способная даже при выраженной гипергидратации практически нормализовать артериальное давление. Количество применяемых антигипертензивных препаратов в этих двух группах отличалось значимо: в среднем 1,2 на пациента в группе с ОГ менее 15% и 3,1 на пациента в группе с ОГ свыше 15%. Это свидетельствует в пользу прямой связи объемной перегрузки и артериальной гипертензии. В этой связи нельзя не упомянуть об отдельной категории больных с недостаточностью кровообращения, у которых склонность к артериальной гипотензии может сочетаться со значительной гипергидратацией, а достижение сухого веса приводит к повышению АД. В подобной ситуации возможность инструментальной достоверной оценки уровня гипергидратации представляется особенно ценной [4].

Не менее полезной БИС представляется в случаях выраженной гипергидратации при вводе в диализную программу, когда весь массив избыточной жидкости известен в дебюте лечения. Такая информация существенно облегчает быстрое достижение состояния эуволемии. При этом большую помощь может оказать мониторинг относительного объема крови в ходе сеанса диализа, алгоритм применения которого был нами описан ранее [3]. Применение мониторинга относительного объема крови позволяет не только избежать интрадиализной гипотензии в ситуации, когда скорость ультрафильтрации превышает обычные значения, но и исключить отрицательное влияние внутрисосудистой гиповолемии на функции миокарда.

В качестве примера использования БИС при отработке сухого веса можно привести график динамики уровня гипергидратации при подготовке пациента М. к трансплантации почки (рис. 5).

Для верификации данных БИС в начале ее применения была обследована подгруппа стабильных пациентов со стажем диализного лечения в нашем центре от 3 до 25 лет и клинически достоверно отработанным сухим весом (17 женщин и 15 мужчин в возрасте от 26 до 74 лет). Средняя предиализная гипергидратация составляла  $1,26 \pm 0,23$  л по сравнению с состоянием эуволемии по данным БИС.

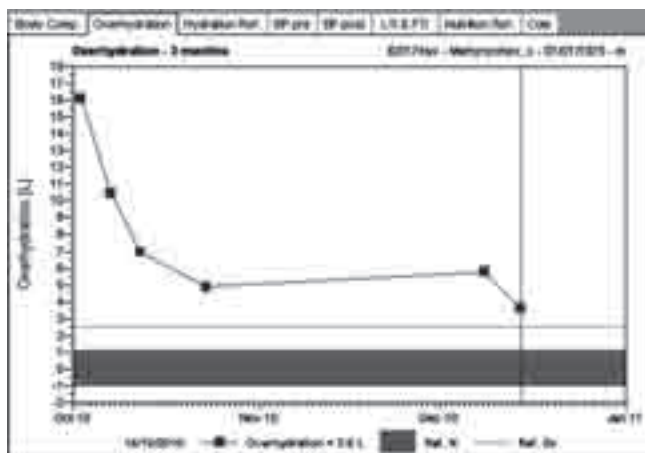


Рис. 5. Динамика уровня преддиализной гипергидратации при подготовке пациента к трансплантации почки

Дегидратация после процедуры в сравнении с этими данными в среднем равнялась  $0,77 \pm 0,21$  л, что соответствовало средней ультрафильтрации  $2,65 \pm 0,14$  л. В этой подгруппе данные БИС вполне соответствовали клиническим показателям. Данные БИС относительно гипергидратации представлялись заниженными ( $0,3–0,7$  в сравнении с  $2,5–3$  л по клинической оценке) у трех пациенток средних лет со стандартными показателями индекса массы тела. В данной ситуации мы не можем полностью исключить возможности ошибочной клинической оценки сухого веса, однако стоит упомянуть об отсутствии каких-либо симптомов избыточной дегидратации в ходе сеансов гемодиализа. Очевидно, такое наблюдение можно объяснить индивидуальными отклонениями от стандартной модели, которая используется в программном обеспечении анализатора БИС. В этой связи некоторые авторы рекомендуют не использовать стандартную модель состава тела, а ориентироваться на первичные результаты БИА, прежде всего – величину фазового угла. Однако в рутинной клинической практике такой подход представляется малоупотребимым и неудобным для длительного мониторинга.

Достоверность показателей состава тела зависит от качества применяемой модели еще в большей степени. Если параметры гидратации секторов организма рассчитываются по первичным данным БИА – R, X и Ф, то оценка тощей массы основывается на величине внутриклеточной гидратации, то есть является производной от производного значения. Жировая же масса определяется как простая арифметическая разница массы тела и тощей массы. На рис. 6 представлена динамика параметров состава тела пациента М., данные гипергидратации которого были показаны на рис. 5. Пациент с поликистозом почек поступил для подготовки к трансплантации почки, гипергидратация по данным БИС при поступлении составляла более 16 литров. Пациенту

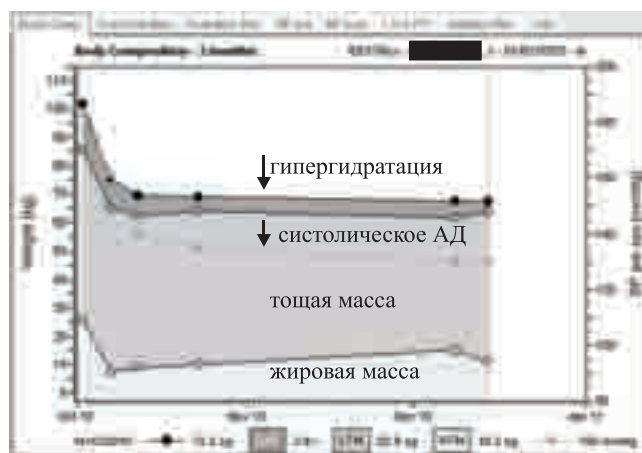


Рис. 6. Динамика параметров состава тела при подготовке пациента к трансплантации почки

была проведена билатеральная нефрэктомия. Масса удаленной почечной ткани при БИС проявилась как потеря жировой ткани, что вполне закономерно, так как внутренние органы, даже огромные поликистозные почки, оказывают на показатели БИА незначительное влияние. В последующем отмечалось закономерное увеличение массы жировой ткани, так как сухой вес пациента прирастал на фоне устранения очага инфекции и адекватного диализного лечения. Изменения соотношения тощей и жировой массы при отдельных измерениях не всегда бывали объяснимы, однако при серийных измерениях общая тенденция изменения параметров состава тела оказывалась вполне закономерной.

Возможность мониторировать параметры состава тела в значительной степени способна облегчить оценку белково-энергетической адекватности питания. В настоящее время для оценки мышечной и жировой массы у диализных пациентов традиционно применяются антропометрические измерения и калиперометрия – методы чрезвычайно трудоемкие и не отличающиеся точностью результатов. Для их замены простым и недорогим методом БИС требуются дальнейшие исследования с накоплением достаточного массива доказательств валидности метода.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, БИА представляется достоверной методикой объективизации статуса гидратации у пациентов, находящихся на программном лечении гемодиализом. Учитывая простоту проведения и незначительные трудозатраты измерений, дешевизну методики, можно предполагать, что БИА займет главенствующее место среди инструментальных методов оценки степени гидратации и станет стандартным методом в рутинной практике программного гемодиализа. Многочастотная БИС, отличающаяся более точными результатами при оценке рас-

пределения жидкости по секторам организма, может стать полезным инструментом изучения и мониторинга параметров состава тела – тощей и жировой массы. Эти показатели позволят объективизировать статус питания, являющийся в диализной популяции одним из основных факторов, определяющих результаты лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гаврилин В.А., Строков А.Г.* Диаметр нижней полой вены у пациентов на гемодиализе как критерий оценки степени гидратации // *Нефрология и диализ.* 2001. № 1. С. 67–69.
2. *Николаев Д.В., Смирнов А.В., Бобринская И.Г., Руднев С.Г.* Биоимпедансный анализ состава тела человека. М., 2009. 392 с.
3. *Строков А.Г., Терехов В.А.* Показатель относительного объема крови у пациентов на программном гемодиализе // *Нефрология и диализ.* 2010. Т. 12. № 2. С. 101–105.
4. *Agarwal R., Weir M.R.* Dry-weight: a concept revisited in an effort to avoid medication-directed approaches for blood pressure control in hemodialysis patients // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2010. Vol. 5. P. 1255–1260.
5. *Burton J.O., Jefferies H.J., Selby N.M., McIntyre C.W.* Hemodialysis-induced cardiac injury: determinants and associated outcomes // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. Vol. 4. P. 914–920.
6. *Carter M., Zhu F., Kotanko P. et al.* Assessment of body composition in dialysis patients by arm bioimpedance compared to MRI and 40K measurements // *Blood Purif.* 2009. Vol. 27. P. 330 – 336.
7. *Charra B.* Fluid balance, dry weight, and blood pressure in dialysis // *Hemodial Int.* 2007. Vol. 11. P. 21–31.
8. *Kaysen G.A., Zhu F., Sarkar S. et al.* Estimation of total-body and limb muscle mass in hemodialysis patients by using multifrequency bioimpedance spectroscopy // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 82. P. 988–995.
9. *Kotanko P., Levin N.W., Zhu F.* Current state of bioimpedance technologies in dialysis // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008. Vol. 23. P. 808–812.
10. *Lindley E.J., Chamney P.W., Wuepper A. et al.* A comparison of methods for determining urea distribution volume for routine use in on-line monitoring of haemodialysis adequacy // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009. Vol. 24. P. 211–216.
11. *Machek P., Jirka T., Moissl U. et al.* Guided optimization of fluid status in haemodialysis patients // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25. P. 538–544.
12. *Osajima A., Okazaki M., Kato H. et al.* Clinical significance of natriuretic peptides and cyclic GMP in hemodialysis patients with coronary artery disease // *Am. J. Nephrol.* 2001. Vol. 21. P. 112–119.
13. *Passauer J., Petrov H., Schleser A. et al.* Evaluation of clinical dry weight assessment in haemodialysis patients using bioimpedance spectroscopy: a cross-sectional study // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25. P. 545–551.
14. *Thomasset A.* Bio-electrical properties of tissue impedance measurements // *Lion Med.* 1962. Vol. 207. P. 107–118.
15. *Tripepi G., Mattace-Raso F., Mallamaci F. et al.* Biomarkers of left atrial volume: a longitudinal study in patients with end stage renal disease // *Hypertension.* 2009. Vol. 54. P. 818–824.
16. *Wabela P., Chamney P., Moissl U., Jirka T.* Importance of whole-body bioimpedance spectroscopy for the management of fluid balance // *Blood Purif.* 2009. Vol. 27. P. 75–80.
17. *Wizemann V., Wabel P., Chamney P. et al.* The mortality risk of overhydration in haemodialysis patients // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009. Vol. 24. P. 1574–1579.
18. *EBPG guideline on haemodynamic instability // Nephrol. Dial. Transplant.* 2007. Vol. 22. Suppl. 2.

## ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ АНТИКОАГУЛЯНТА НА РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕМОСОВМЕСТИМЫХ СВОЙСТВ МЕДИЦИНСКИХ МАТЕРИАЛОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Немец Е.А.<sup>1</sup>, Севастьянов В.И.<sup>1</sup>, Уваров С.П.<sup>1, 2</sup>, Романов О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

<sup>2</sup> ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора, г. Москва

Был проведен сравнительный анализ влияния выбора антикоагулянта на результаты тестирования материалов медицинского назначения. Показано, что замена цитрата натрия на гепарин сопровождается значительными изменениями параметров адгезии и активации тромбоцитов. Полученные результаты позволяют прийти к заключению о целесообразности применения гепарина при тестировании гемосовместимых свойств медицинских материалов *in vitro*.

*Ключевые слова:* тромбоциты, антикоагулянт, биоматериалы, гемосовместимость.

## SPECIFIC ASPECTS OF INTERACTION OF PLATELETS WITH THE HEPARINIZED MATERIALS

Nemets E.A.<sup>1, 2</sup>, Sevastianov V.I.<sup>1, 2</sup>, Uvarov S.P.<sup>1</sup>, Romanov O.V.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Allrussian Research and Testing Institute of Medical Technique, Moscow

Comparative analysis of anticoagulant nature on medical materials testing was done. It was found that change of citrate by heparin is accompanied by significant changes in platelet adhesion and activation. This results allowed us to arrive at a conclusion about reasonability of heparin usage as anticoagulant in *in vitro* testing.

*Key words:* platelets, anticoagulant, biomaterials, blood compatibility.

### ВВЕДЕНИЕ

Материалы, используемые для изготовления искусственных органов и изделий медицинского назначения, контактирующих с кровью человека, не должны оказывать отрицательного воздействия на кровь и ее компоненты, т. е. должны быть гемосовместимыми [1].

Определяющую роль в механизме взаимодействия чужеродной поверхности с кровью, и тем самым в ее гемосовместимости, играют процессы адгезии и активации тромбоцитов [2]. В экспериментальных исследованиях *in vivo* в качестве антикоагулянта применяют гепарин, а при оценке гемосовместимых свойств образцов медицинских изделий

в условиях *in vitro* используют кровь, стабилизированную цитратом натрия [3].

Механизм действия этих антикоагулянтов различен. Гепарин катализирует инактивацию тромбина антитромбином III, воздействуя на процесс свертывания крови на конечных стадиях, непосредственно предшествующих образованию фибрина [4]. Цитрат натрия предотвращает свертывание крови за счет выведения кальция из системы гемостаза посредством его комплексообразования [5]. В то же время ионы кальция являются не только критическим компонентом внутреннего пути свертывания крови, но и участвуют в процессах адгезии и активации тромбоцитов [6].

Статья поступила в редакцию 13.01.12 г.

**Контакты:** Немец Евгений Абрамович, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова».

Тел. 8 (499) 193 86 62, e-mail: evgnemets@yandex.ru

Вполне вероятно, что часто дискутируемая в научной литературе причина расхождений результатов, полученных в условиях *in vitro* и *in vivo* при оценке гемосовместимых свойств медицинских изделий, обусловлена в ряде случаев различной природой используемых антикоагулянтов [7].

Для экспериментального обоснования данного предположения целью данной работы было изучение влияния природы антикоагулянта на взаимодействие поверхности биоматериалов с тромбоцитами в условиях *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материалов для изучения количества и морфологии адгезированных тромбоцитов использовали синтетические полимеры медицинского назначения в виде пленок:

- полиэтилен медицинский низкой плотности (ПЭ), ГОСТ 10354-82, партия 65, толщина 60 мкм, ЗАО «Синпласт», Россия;
- поливинилхлорид медицинский (ПВХ), толщина 180 мкм, марки ПМ-1/42, ТУ 64-2-286-79;
- полиуретан (ПУ) в виде пленок толщиной 200 мкм марки Т-0533-90;
- политетрафторэтилен (ПТФЭ) в виде пленок, толщиной 80 мкм, ГОСТ 5-1078-71, Россия.

Источником тромбоцитов служила кровь человека, полученная от здоровых доноров мужского пола (22–47 лет). В качестве антикоагулянта использовали 3,8% водный раствор цитрата натрия и раствор гепарина на физиологическом растворе (ФР) с концентрациями 4, 8, 12 ед/мл. Венозную кровь отбирали в пробирки объемом 10 мл, содержащие 1 мл антикоагулянта. Для получения плазмы, обогащенной тромбоцитами (ПОТ), стабилизированную кровь центрифугировали при 200 г в течение 20 минут.

Аликвоты ПОТ объемом 100 мкл наносили на поверхность исследуемого образца с помощью микропипетки. Образцы помещали внутрь чашки Петри во влажную атмосферу для предотвращения высыхания капли. Время инкубации составляло 15 минут при комнатной температуре.

После инкубации исследуемые образцы тщательно промывали в ФР для удаления слабосвязанных с поверхностью тромбоцитов и фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида в течение не менее 2 часов.

В качестве основного метода исследования была выбрана сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) [8].

Образцы обезвоживали последовательной инкубацией в растворах этилового спирта с возрастающей концентрацией по схеме: 50% спирт – 3 мин, 50% спирт – 3 мин, 70% спирт – 3 мин, 90% спирт – 6 мин, 96% спирт – 6 мин. Готовые образцы суши-

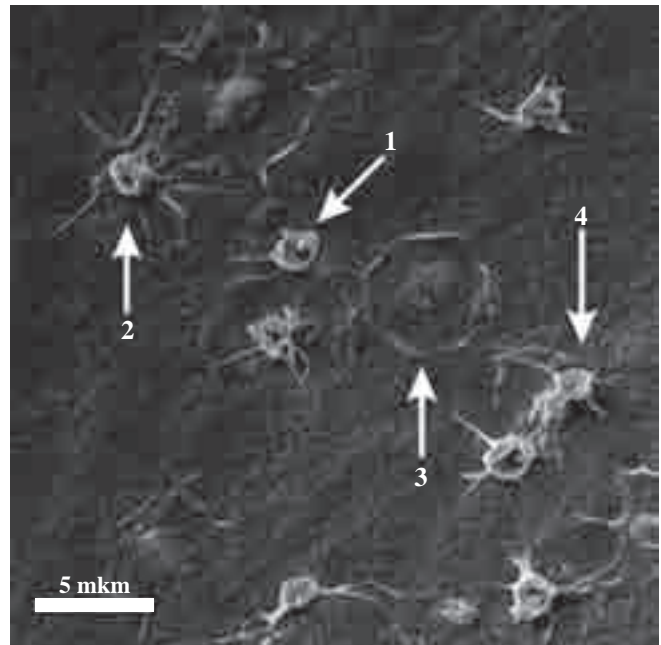


Рис. 1. Разделение адгезированных тромбоцитов по морфологическим признакам

ли на воздухе и наклеивали на предметный столик для электронной микроскопии. Необходимое для электронно-микроскопических исследований токопроводящее покрытие получали методом ионного напыления платины в течение 40 секунд при постоянном токе 5–7 мА на установке JFC-1600 (JEOL, Япония).

Регистрацию количества и морфологии адгезированных тромбоцитов проводили с применением сканирующего электронного микроскопа JSM-6360 LA (JEOL, Япония) при увеличении  $\times 1500$ . На поверхности каждого из образцов произвольным образом выбирали 25 полей. В каждом поле производили подсчет общего числа адгезированных тромбоцитов, а также отдельных морфологических форм (рис. 1).

Для количественной оценки процесса адгезии тромбоцитов на поверхности биоматериалов использовали относительный показатель адгезии тромбоцитов (ОПАТ), определяемый по формуле:

$$\text{ОПАТ} = \frac{N_{\text{обр}}}{N_{\text{контр}}}$$

где  $N_{\text{обр}}$  и  $N_{\text{контр}}$  – общее количество клеток, адгезированных на поверхности образца и контроля соответственно. В качестве контроля использовали поверхность того же материала с тромбоцитами, адгезированными в результате инкубации с цитратной плазмой.

Для оценки степени активации адгезированных тромбоцитов было выбрано три морфологических класса:

- 1) слабо активированные (сферические и с псевдоподиями, подклассы 1 и 2 на рис. 1);

- 2) сильно активированные (полностью распластанные, подкласс 3 на рис. 1);
- 3) агрегаты (подкласс 4 на рис. 1).

Для оценки влияния антикоагулянта не только на количество адгезированных на поверхности биоматериалов тромбоцитов, но и на степень активации клеток был введен относительный показатель степени активации тромбоцитов ОСАТ:

$$ОСАТ = \frac{N_A^Г}{N_A^Ц} \cdot \frac{N_\Sigma^Ц}{N_\Sigma^Г}$$

где  $N_A^Г$  и  $N_A^Ц$  – количество активированных форм клеток, адгезированных на поверхности материала из тромбоцитарной плазмы, стабилизированной гепарином и цитратом соответственно. А  $N_\Sigma^Ц$  и  $N_\Sigma^Г$  – общее количество клеток, адгезированных на поверхности материала из тромбоцитарной плазмы, стабилизированной цитратом и гепарином соответственно.

Различия в значениях ОПАТ и ОСАТ будут свидетельствовать о наличии влияния природы антикоагулянта на характер взаимодействия поверхности исследуемых материалов с тромбоцитами.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Был проведен сравнительный анализ адгезии и активации тромбоцитов человека на поверхности различных полимерных материалов в зависимости от природы и концентрации антикоагулянта.

Рис. 2 иллюстрирует влияние природы и концентрации антикоагулянта на количество тромбоцитов, адгезированных на поверхности медицинских материалов. В качестве контроля использовали количество клеток, адгезированных из цитратной плазмы на поверхности исследуемого материала.

Как видно из рис. 2, при переходе от цитрата натрия к гепарину количество адгезированных тромбоцитов, как правило, снижается. Однако зависимость ОПАТ от концентрации гепарина носит экстремальный характер с ярко выраженным минимумом адгезии тромбоцитов при концентрации гепарина до 8,0 ЕД/мл.

На рис. 3–5 представлены графики распределения тромбоцитов, адгезированных на поверхности исследованных материалов, по степени их активации.

В случае поверхности ПУ (рис. 3) морфологическая картина активации тромбоцитов при переходе от цитрата к гепарину практически не меняется вплоть до концентрации последнего, равной 8,0 ЕД/мл. С ростом концентрации гепарина до 12 ЕД/мл количество распластных форм тромбоцитов заметно увеличивается, а количество агрегатов, напротив, снижается.

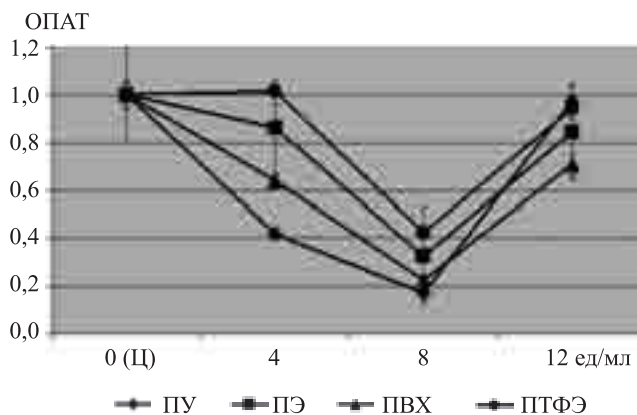


Рис. 2. Влияние природы антикоагулянта на количество тромбоцитов, адгезированных на поверхности медицинских материалов

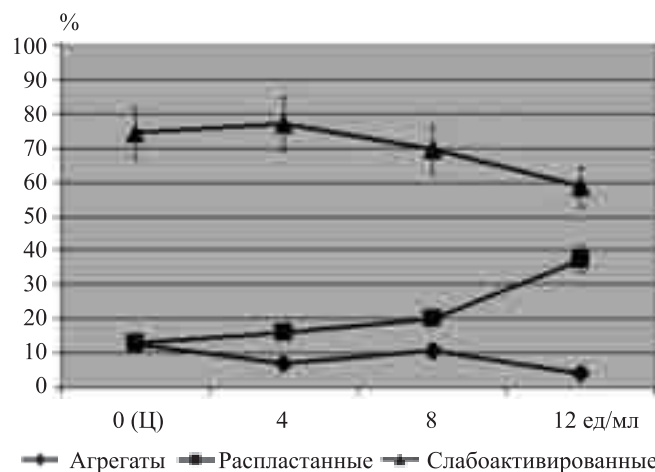


Рис. 3. Распределение тромбоцитов по классам на поверхности ПУ

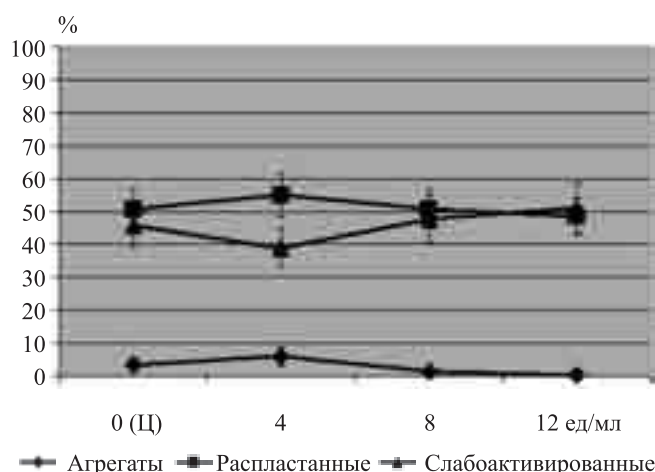


Рис. 4. Распределение тромбоцитов по классам на поверхности ПЭ

Для поверхности ПЭ (рис. 4) переход от цитратной плазмы к гепаринсодержащей существенным образом не влияет на характер активации тромбо-

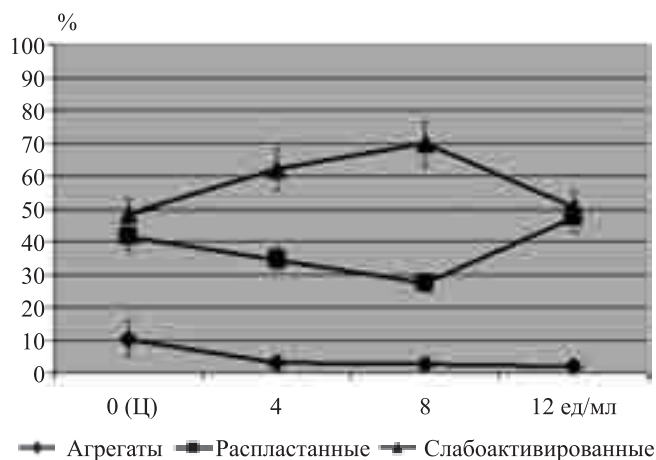


Рис. 5. Распределение тромбоцитов по классам на поверхности ПВХ

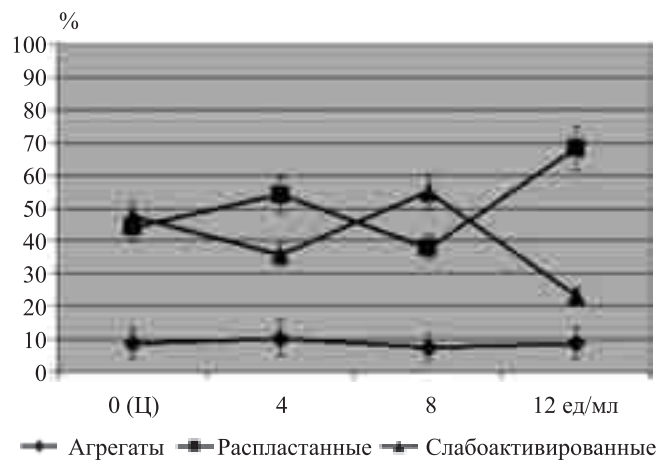


Рис. 6. Распределение тромбоцитов по классам на поверхности ПТФЭ

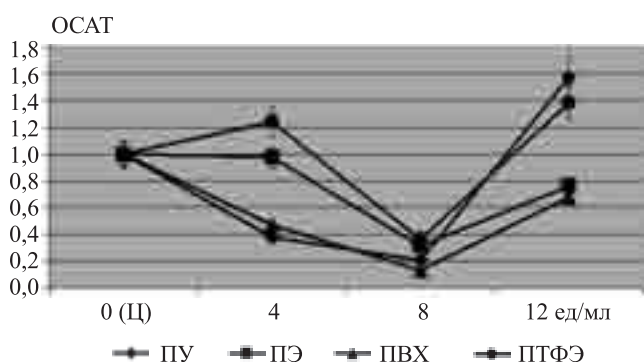


Рис. 7. Влияние природы антикоагулянта на степень активации тромбоцитов, адгезированных на поверхности медицинских материалов

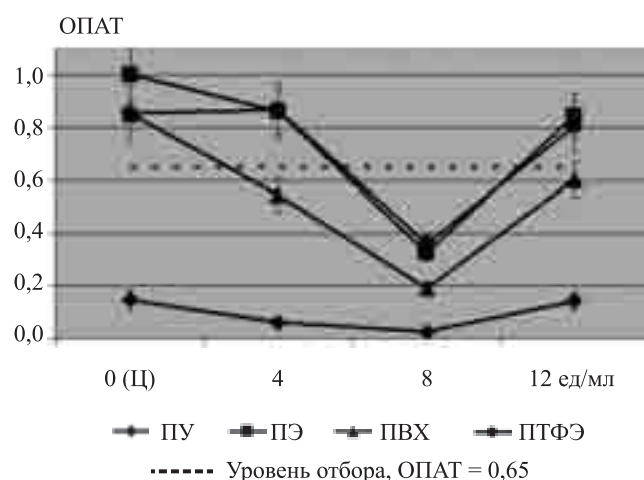


Рис. 8. Значения ОПАТ в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993

цитов. Можно лишь отметить некоторое снижение числа агрегатов среди активированных форм тромбоцитов при концентрации гепарина, превышающей 8,0 ед/мл.

На рис. 5 представлены распределения тромбоцитов по классам на поверхности ПВХ в зависимости от природы антикоагулянта, аналогичные поверхности ПУ (рис. 3). При переходе от цитрата к гепарину наблюдается снижение активации тромбоцитов с минимумом при концентрации гепарина, равной 8,0 ед/мл. При увеличении концентрации гепарина до 12 ед/мл количество агрегатов продолжает снижаться, а количество распластанных клеток повышается, что, как и в случае с ПУ (рис. 3), свидетельствует о повышении активации тромбоцитов при высоких концентрациях гепарина.

В случае ПТФЭ при малой и средней концентрациях гепарина (4,0 и 8,0 ед/мл) не наблюдается существенных изменений в характере активации адгезированных тромбоцитов по сравнению с цитратной плазмой. С повышением концентрации гепарина до 12 ед/мл происходит заметное увеличение количества распластанных клеток на фоне снижения слабоактивированных форм. Количество адгезиро-

ванных агрегатов для данного материала не зависит от концентрации гепарина.

Следует отметить, что для большинства изученных полимерных материалов замена цитрата на гепарин не сопровождается существенными изменениями в количестве сильно активированных форм адгезированных тромбоцитов. Однако увеличение концентрации гепарина до 12 ед/мл сопровождается заметным повышением сильноактивированных форм адгезированных тромбоцитов за счет полностью распластанных клеток. При этом число адгезированных агрегатов с ростом концентрации гепарина имеет тенденцию к снижению.

На рис. 7 приведена зависимость относительной степени активации тромбоцитов (ОСАТ) от природы и концентрации антикоагулянта. Этот параметр является интегральным и учитывает как количество адгезированных клеток, так и степень их активации. Как видно из рис. 7, замена цитрата на гепарин в относительно низкой концентрации (4,0 ед/мл) может сопровождаться как повышением (ПТФЭ), так

и снижением (ПВХ и ПУ) степени активации адгезированных тромбоцитов, тогда как в случае ПЭ замена цитрата на гепарин не сопровождается изменением параметра ОСАТ. Минимальная активация адгезированных тромбоцитов для всех изученных образцов медицинских материалов наблюдается при концентрации гепарина, равной 8,0 ед/мл. Увеличение концентрации гепарина до 12 ед/мл сопровождается значительным повышением критерия ОСАТ (рис. 7). При этом степень активации адгезированных тромбоцитов может быть как выше (ПУ и ПТФЭ), так и ниже (ПЭ и ПВХ) по сравнению с цитратной плазмой.

Из полученных результатов изучения влияния природы и концентрации антикоагулянта на процессы адгезии (рис. 2) и активации (рис. 7) тромбоцитов на поверхности различных материалов можно сделать вывод, что эти два процесса идут параллельно: рост общего количества адгезированных тромбоцитов сопровождается увеличением вклада активированных форм в распределение клеток по классам.

Вероятно, при низкой концентрации гепарина (4 ед/мл) количества активного гепарина не хватает для эффективного подавления адгезии и активации тромбоцитов в случае поверхности, демонстрирующей высокую адгезию и степень активации тромбоцитов, например ПТФЭ. Возможно, причиной этого служит инактивация существенной части гепарина агентами, присутствующими в плазме крови и выделяющимися в процессе адгезии и активации тромбоцитов, например тромбоцитарным фактором 4, который ингибирует каталитические свойства гепарина в отношении к инактивации тромбина антитромбином III [9]. При концентрации гепарина, равной 8,0 ед/мл, адгезия и активация тромбоцитов для всех изученных материалов минимальна и резко возрастает с повышением концентрации антикоагулянта до 12 ед/мл. Механизм этого пока остается неясным и требует дальнейшего изучения.

Испытания гемосовместимых свойств медицинских материалов согласно ГОСТ Р ИСО 10993 «Изделия медицинские, оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 4, исследование изделий, взаимодействующих с кровью», действующему на территории РФ, предполагают применение ПЭ в качестве единого контроля при регистрации адгезии и активации тромбоцитов в условиях *in vitro*. При этом критерием отбора является соответствие условию  $ОПАТ \leq 65 \pm 0,05$ .

На рис. 8 представлены результаты исследования гемосовместимых свойств медицинских материалов согласно ГОСТ Р ИСО 10993. Общий вид кривых незначительно отличается от таковых, представленных на рис. 2, иллюстрирующем влия-

ние природы и концентрации антикоагулянта на характер адгезии тромбоцитов при выборе в качестве контроля количества тромбоцитов, адгезированных из цитратной плазмы на поверхности соответствующего исследуемого материала. Вместе с тем применение единого контроля (поверхность ПЭ, цитратная плазма) позволяет выявить области применимости конкретного материала в зависимости от специфики его функционирования. Так, полиуретан и поливинилхлорид во всем диапазоне изученных концентраций гепарина удовлетворяет критерию гемосовместимости согласно показателю ОПАТ. В то же время полиэтилен и тефлон демонстрируют значения  $ОПАТ \leq 0,65 \pm 0,05$  лишь при концентрации гепарина, равной 8,0 ед/мл.

Поскольку концентрация гепарина в зависимости от специфики функционирования медицинских изделий может различаться значительно, исследование гемосовместимых свойств медицинских материалов и изделий следует проводить в широком диапазоне концентраций гепарина. Это позволит оценить степень пригодности того или иного материала с точки зрения применения их в составе конкретного изделия медицинского назначения, предназначенного для функционирования в условиях контакта с кровью при определенной концентрации антикоагулянта.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что адгезия и активация тромбоцитов на поверхности биоматериала зависят от природы антикоагулянта. Как количество, так и степень активации тромбоцитов, адгезированных в условиях *in vitro* при контакте поверхности медицинских материалов различной природы с тромбоцитарной плазмой, стабилизированной гепарином, могут быть выше или ниже по сравнению с цитратной плазмой.

Поскольку при оценке *in vivo* биологической безопасности медицинских изделий, предназначенных для контакта с кровью, в качестве антикоагулянта используется гепарин, то для снижения риска возможных расхождений результатов экспериментов в условиях *in vitro* и *in vivo* целесообразнее в экспериментах *in vitro* использовать гепаринизированную, а не цитратную кровь. Учитывая, что зависимость адгезии и активации тромбоцитов от концентрации гепарина носит нелинейный характер, эксперименты в условиях *in vitro* следует проводить при различных концентрациях гепарина.

**Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 11-02-12185).**



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ремеева А.А., Немец Е.А., Севастьянов В.И.* Методические особенности оценки адгезии тромбоцитов человека и кролика на поверхность полимерных материалов методами оптической и сканирующей электронной микроскопии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008. № 2. С. 38–45.
2. *Севастьянов В.И.* Общие представления о процессах взаимодействия чужеродной поверхности с биологическими средами // Биосовместимые материалы / Под ред. В.И. Севастьянова, М.П. Кирпичникова. М.: МИА, 2011. С. 25–30.
3. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Под ред. Н.У. Тица. – М.: Лабинформ, 1997. С. 7–10.
4. *Жозефович М., Жозефович Ж.* Гепаринсодержащие и гепариноподобные полимеры // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. – 1985. № 30. С. 410–418.
5. *Папаян Л.П.* Плазменно-коагуляционное звено гемостаза // Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний; под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян, Санкт-Петербург, 1999. С. 10–19.
6. *Маркосян А.А.* Кальций. Физиология свертывания крови. М.: Медицина, 1966. С. 76–81.
7. *Севастьянов В.И.* Взаимодействие чужеродной поверхности с белковыми и клеточными компонентами биологических сред // Биосовместимые материалы; под ред. В.И. Севастьянова, М.П. Кирпичникова. М.: МИА, 2011. С. 100–108.
8. *Доброва Н.Б., Носкова Т.И., Новикова С.П., Севастьянов В.И.* Сборник методических рекомендаций по оценке биосовместимых свойств искусственных материалов, контактирующих с кровью. М., 1991. 70 с.
9. *Jacobs H., Okano T., Lin J.Y., Kim S.W.* PGE-heparin conjugate releasing polymers // J. Controlled. Release. 1985. Vol. 2. P. 313–319.

## ОСОБЕННОСТИ АДГЕЗИИ И ПРОЛИФЕРАЦИИ ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ ЛИНИИ NIH/3T3 НА ПЛЕНКАХ ИЗ БАКТЕРИАЛЬНОГО СОПОЛИМЕРА ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТ-СО-3-ГИДРОКСИВАЛЕРАТА) С РАЗЛИЧНОЙ ШЕРОХОВАТОСТЬЮ ПОВЕРХНОСТИ

Сургученко В.А.<sup>1</sup>, Пономарева А.С.<sup>2</sup>, Ефимов А.Е.<sup>1</sup>, Немец Е.А.<sup>1</sup>, Агапов И.И.<sup>1</sup>,  
Севастьянов В.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»  
Минздравсоцразвития России, г. Москва

<sup>2</sup> АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий», г. Москва

Проведен анализ адгезии и пролиферации фибробластов мыши линии NIH/3T3 на поверхности пленок из бактериального сополимера поли(3-гидроксибутирата-со-3-гидроксивалерата) с разной величиной шероховатости поверхности. Методом атомно-силовой микроскопии показано, что все образцы пленок обладали значительно большей шероховатостью ( $92,0 \pm 7,0$ ;  $290,8 \pm 7,0$ ;  $588,8 \pm 16,0$  нм), чем культуральный пластик, использовавшийся в качестве контроля ( $9,5 \pm 0,6$  нм). Обнаружено, что при увеличении шероховатости наблюдается существенное снижение адгезии и метаболической активности клеток. Фибробласты мыши линии NIH/3T3 слабо удерживаются на поверхности исследуемых пленок и легко смываются с субстрата в процессе отмывки и окраски.

*Ключевые слова:* фибробласты, пролиферация, метаболическая активность, бактериальный сополимер, шероховатость.

## CHARACTERISTICS OF ADHESION AND PROLIFERATION OF MOUSE NIH/3T3 FIBROBLASTS ON THE POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE) FILMS WITH DIFFERENT SURFACE ROUGHNESS VALUES

Surguchenko V.A.<sup>1</sup>, Ponomareva A.S.<sup>2</sup>, Efimov A.E.<sup>1</sup>, Nemets E.A.<sup>1</sup>, Agapov I.I.<sup>1</sup>,  
Sevastianov V.I.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ANO «Institute of Biomedical Research and Technology», Moscow

Adhesion and proliferation of NIH/3T3 mouse fibroblasts on the surfaces of bacterial copolymer poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) films with different roughness was investigated. Atomic force microscopic analysis showed that surface roughness values of all films were significantly greater ( $92.0 \pm 7.0$ ;  $290.8 \pm 7.0$ ;  $588.8 \pm 16.0$  nm) than that of the cultural plastic control ( $9.5 \pm 0.6$  nm). It was revealed that adhesion and metabolic activity of the cells decreases with the increase of surface roughness values. NIH/3T3 mouse fibroblasts attached weakly to the surface of copolymer films and washed away the substrate during rinsing and staining.

*Key words:* fibroblasts, proliferation, metabolic activity, bacterial copolymer, roughness.

Статья поступила в редакцию 17.11.11 г.

**Контакты:** Сургученко Валентина Александровна, старший научный сотрудник.

Тел. 8 (499)193 86 62, e-mail: valent.egorova@gmail.com

## ВВЕДЕНИЕ

Регенеративная (восстановительная) медицина – это обобщенный термин для обозначения различных терапевтических и хирургических клеточных технологий, направленных на частичную или полную компенсацию функций поврежденных или утраченных органов (тканей) [2]. В регенеративной медицине выделяют два основных направления. Одно из них связано со стимулированием клеточной/тканевой регенерации с помощью трансплантации стволовых клеток или их ассоциатов с соматическими клетками. Второе направление заключается в восстановлении целостности, структуры и функций тканей и органов с помощью так называемых тканеинженерных конструкций и биоискусственных органов, которые включают в себя следующие компоненты:

- клетки, способные формировать функционирующий внеклеточный матрикс;
- подходящий биodeградируемый носитель (матрикс) для трансплантации клеток;
- биоактивные молекулы (цитокины, факторы роста), которые оказывают биостимулирующее действие на клетки поврежденной ткани.

Тканеинженерные носители создаются для обеспечения двух- или трехмерного окружения клеток, способствующего улучшению их пролиферативных и функциональных свойств. Физико-химические и биологические свойства матриксов являются определяющими в обеспечении жизнедеятельности клеток [8].

Шероховатость и топография поверхности, как известно, влияют на адгезию и распластывание клеток различных типов на субстрате, пролиферацию как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, определяют их двигательную активность, морфологию, ориентацию, а также влияют на синтез специфических белков и внутриклеточную сигнализацию [5, 11]. Даже небольшие изменения профиля поверхности субстрата могут приводить к изменению клеточного ответа в большом диапазоне – от слабого усиления клеточной активности до значительно ее угнетения. Различные типы клеток отличаются по своей чувствительности к вариациям шероховатости и топографии поверхности. Так, например, исследование поведения нейрональных клеток на поверхностях с разбросом величин шероховатости от 6 нм до 200 мкм показали, что при шероховатости 6–49 нм происходило увеличение длины аксона клеток, а нейриты становились более разветвленными. В случае шероховатости в диапазоне 87–200 нм нейроны были менее развиты, тело нейрона имело округлую морфологию, процессы разветвления замедлялись [4]. Для клеток пупочной вены человека (HUVEC) увеличение шероховатости в диапазо-

не от 10 до 102 нм способствует адгезии и пролиферации данного типа клеток [6].

Цель данной работы – изучение влияния шероховатости поверхности пленок из бактериального сополимера поли(3-гидроксibuтирата-со-3-гидроксивалерата) на адгезию и пролиферацию фибробластов мыши линии NIH/3T3.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Изготовление пленок

Образцы исследуемых материалов в виде пленок изготавливали методом полива из 1%-го раствора бактериального сополимера поли(3-гидроксibuтирата-со-3-гидроксивалерата) (п(3-ГБ-со-3-ГВ), с содержанием гидроксивалерата 12%, Fluka, США, и 26%, Институт биофизики СО РАН, г. Красноярск, Россия) в метилхлориде. С целью изменения шероховатости поверхности пленок полиэтиленгликоль (ПЭГ, Merck, Германия) в количестве 20% от веса п(3-ГБ-со-3-ГВ) вносили в рецептуру на стадии растворения сополимера. После полного испарения растворителя на дне чашек Петри образовывалась пленка из сополимера толщиной 40–50 мкм. Полученные пленки сушили при 50 °С в течение 2 ч и инкубировали в дистиллированной воде в течение суток при комнатной температуре и постоянном перемешивании с целью удаления водорастворимых примесей. Затем пленки высушивали при 50 °С и вакуумировали в течение 20 ч при комнатной температуре.

Образцы полученных пленок были промаркированы следующим образом: 1 – сополимер п(3-ГБ-со-3-ГВ), 26% ГВ; 2 – сополимер п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ; 3 – сополимер п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ+20% ПЭГ. В качестве контроля использовали поверхность культурального пластика (КП) (Corning-Costar, США).

### Метод атомно-силовой микроскопии

Анализ топографии и величины шероховатости поверхности пленок проводили методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) с помощью сканирующего зондового микроскопа NST Certus («Нано Скан Технология», Россия) в полуконтактном режиме с использованием зондовых датчиков NSC15 (MikroMasch Co., Эстония) с резонансной частотой ~320 кГц и радиусом острия ~10 нм. Данные по шероховатости поверхности были получены с помощью вычисления среднеквадратичного отклонения (RMS). В работе использована статистика по 5 АСМ-изображениям в разных точках для каждого образца.

### Адгезия и пролиферация фибробластов линии NIH/3T3

Фибробласты мыши линии NIH/3T3, полученные из коллекции перевиваемых соматических клеток позвоночных ГУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН» (НИИВ РАМН), перед посевом на образцы пленок и контроль культивировали в стандартных культуральных флаконах площадью 25 см<sup>2</sup> (Corning-Costar, США), в ростовой среде DMEM («ПанЭко», Россия), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Perbio-NuClone, США), 2 mM L-глутамин («ПанЭко», Россия), 50 мкг/мл гентамицина (ФГУП «НПО «Микроген», Россия), 1 mM NEPES (ПанЭко, Россия) в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при стандартных условиях: 37 °C, во влажной атмосфере, содержащей 5 ± 1% CO<sub>2</sub>. Исходное количество клеток в суспензии определяли с использованием гемоцитометра (камеры Горяева).

Исследуемые стерильные образцы пленок, предварительно помещенные в культуральные плоскодонные 6-луночные планшеты, в асептических условиях засеивали фибробластами мыши линии NIH/3T3. Исходная плотность посева на исследуемые образцы и контроль КП составляла 2 × 10<sup>3</sup> кл./см<sup>2</sup>. После посева 6-луночные планшеты с образцами культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при стандартных условиях в течение 24, 48, 72 и 96 ч, после чего проводили соответствующие исследования. Визуально прикрепившиеся и распластанные клетки оценивали с помощью бинокулярного инвертированного микроскопа «Биолам П-1» (Россия) при увеличении ×300.

Метаболическую активность фибробластов, культивируемых на поверхности исследуемых пленок, оценивали через 24, 48, 72 и 96 ч с помощью витального реагента alamarBlue® (Invitrogen, Великобритания) согласно протоколу, рекомендуемому производителем. В лунки, содержащие исследуемые образцы, добавляли 10% витального реагента alamarBlue®, после чего образцы инкубировали с alamarBlue® в течение 4 ч при 37 °C во влажной атмосфере, содержащей 5 ± 1% CO<sub>2</sub>. alamarBlue® – витальный краситель, в состав которого входит индикатор окислительно-восстановительных процессов. Пролиферирующие клетки восстанавливают alamarBlue®, вследствие чего происходит изменение его цвета с индиго на розовый. Изменение поглощения среды регистрировали с помощью комбинированного ридера для микропланшет Synergy™2, модель SLFPA (Bio Tec Instruments Inc., США) на длинах волн 570 и 600 нм. В качестве контроля использовали среду без клеток с добавлением alamarBlue®. Процент восстановленного alamarBlue® характеризует метаболическую активность клеток.

Жизнеспособность фибробластов на поверхности пленок исследовали с помощью набора Live/

dead® Viability/Cytotoxicity Kit (Invitrogen, Великобритания) согласно протоколу, рекомендуемому производителем для фибробластов мыши линии NIH/3T3. Метод заключается в двойном флуоресцентном окрашивании, с одновременным определением живых и мертвых клеток посредством связывания красителей: бромистого этидия (ethidium bromide homodimer, EthD-1) и ацетоксиметил кальцеина (calcein acetoxymethyl, calcein AM). EthD-1 является маркером мертвых клеток, проникая через поврежденную плазматическую мембрану и связываясь с нуклеиновыми кислотами, дает ярко-красное флуоресцентное свечение (возб./эмиссия ~495 нм/~635 нм). Calcein AM, проникая в жизнеспособные клетки, подвергается воздействию внутриклеточных эстераз, превращаясь в кальцеин, дающий ярко-зеленое однородное флуоресцентное свечение (возб./эмиссия ~495 нм/~515 нм). Исследуемые пленки инкубировали в растворе фосфатного буфера Дюльбекко, содержащем 2 мкМ calcein AM и 4 мкМ EthD-1, в течение 30 мин, после чего результаты окрашивания визуализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Люмам Р1 (Ломо, Россия) и фотографировали с помощью цифровой камеры Nikon Coolpix 990 (Япония).

Количественную и статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программ Microplate data collection & Analysis software Gen5™, а также Microsoft Excel. Все результаты представлены в виде среднего значения ± среднеквадратичное отклонение. Различия считали достоверными при p < 0,05.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование образцов методом АСМ показало, что все образцы пленок обладают значительно большей шероховатостью, чем КП, использовавшийся в качестве контроля (табл.). Из трех серий биополимерных пленок минимальной шероховатостью обладает образец 1 (92,0 ± 7,0 нм).

Таблица

Значения шероховатости для исследуемых образцов

Образец	Шероховатость поверхности (RMS), нм (n = 5)
КП	9,5 ± 0,6
1 – сополимер п(3-ГБ-со-3-ГВ), 26% ГВ	92,0 ± 7,0
2 – сополимер п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ	290,8 ± 7,0
3 – сополимер п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ + 20% ПЭГ	588,8 ± 16,0

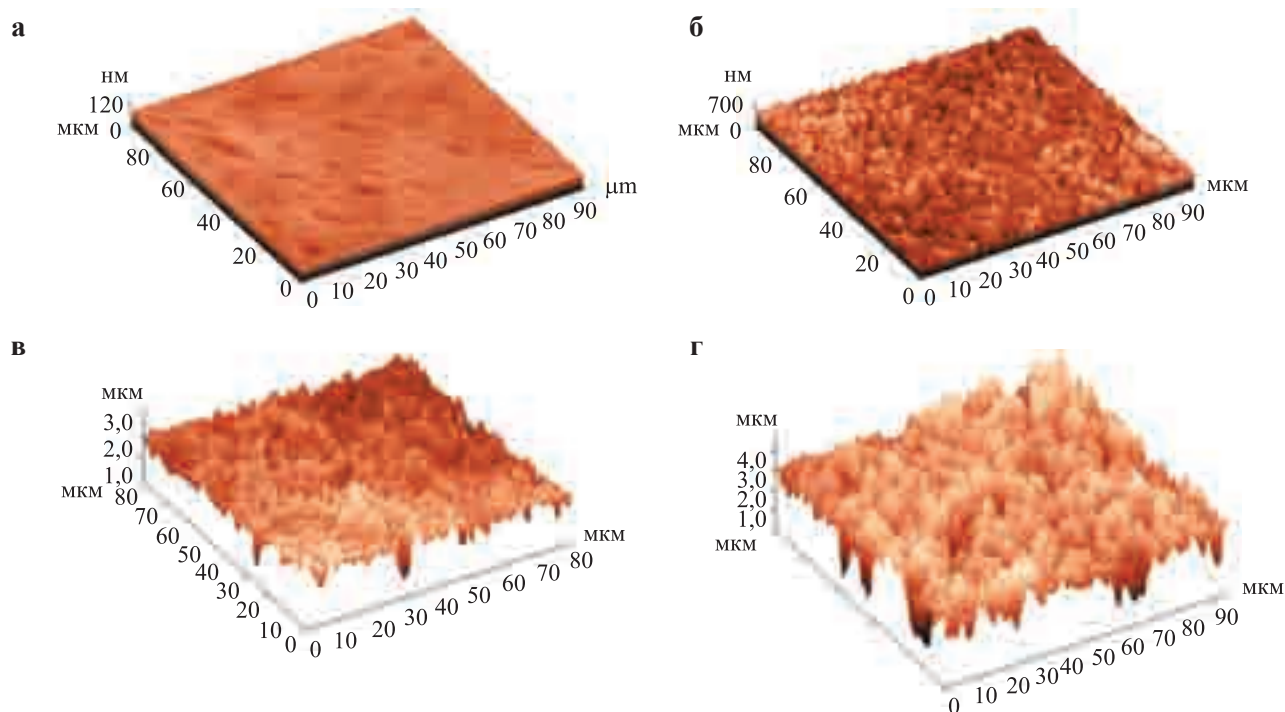


Рис. 1 АСМ-изображения поверхности: а – культурального пластика (КП); б – образца 1 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 26% ГВ); в – образца 2 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ); г – образца 3 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ + 20% ПЭГ). Площадь сканирования 100 × 100 мкм

Образцы 2 и 3 имеют существенно отличающуюся морфологию: поверхность более рыхлая, содержит ярко выраженные поры и волокнистые структуры, а также более высокую шероховатость, чем образец 1. Показано, что добавление ПЭГ в значительной степени влияет как на значение шероховатости поверхности ( $588,8 \pm 16,0$  нм, что в 2 раза превосходит шероховатость поверхности образца 2 и в 6 раз образца 1), так и на морфологию – поверхность содержит более крупные поры и волокнистые структуры большего размера (рис. 1).

Результаты исследования метаболической активности мышинных фибробластов представлены на рис. 2. На протяжении всего времени исследования метаболическая активность фибробластов НИН/ЗТЗ на поверхности контроля – КП с шероховатостью порядка 10 нм была существенно выше, чем на поверхности всех исследуемых образцов, клетки лучше адгезировали и интенсивнее пролиферировали, достигая плотного монослоя через 96 ч.

На образце 3 с наибольшей шероховатостью  $588,8 \pm 16,0$  нм метаболическая активность фибробластов на протяжении всего периода исследования была значительно ниже по сравнению с контролем и образцами 1 и 2, имеющими шероховатость  $92,0 \pm 7,0$  и  $290,8 \pm 7,0$  нм соответственно. Через 24 ч метаболическая активность фибробластов на образцах 1 и 2 одинакова, примерно в 3 раза ниже, чем в контроле, большинство клеток имеют округлую форму, наблюдаются единичные распластанные клет-

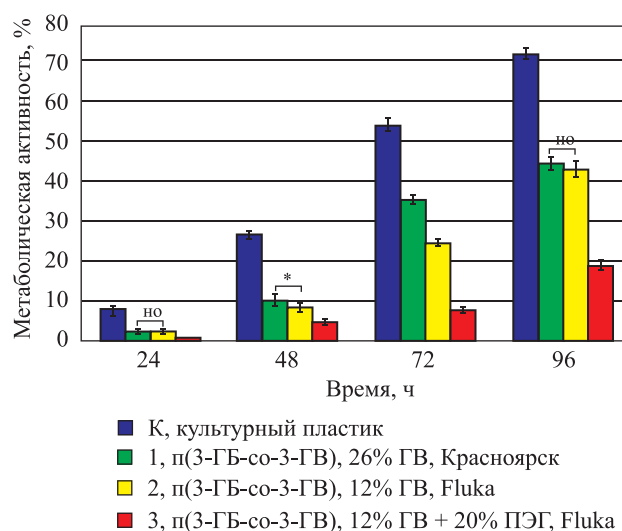


Рис. 2. Метаболическая активность фибробластов мышцы линии НИН/ЗТЗ на поверхности: К – контроля (КП); 1 – образца 1 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 26% ГВ); 2 – образца 2 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ); 3 – образца 3 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ + 20% ПЭГ). (но – различия статистически не значимы, \* – достоверные различия,  $p < 0,05$ )

ки. Через 48 ч между образцами 1 и 2 обнаружено значимое различие метаболической активности, для образца 1 несколько выше, через 72 ч различие растет, а через 96 ч становится снова статистически не различимым. К 96 ч на образцах 1 и 2 образуется монослой, как и в контроле, но в отличие от контроля не все клетки распластанные, фибробла-

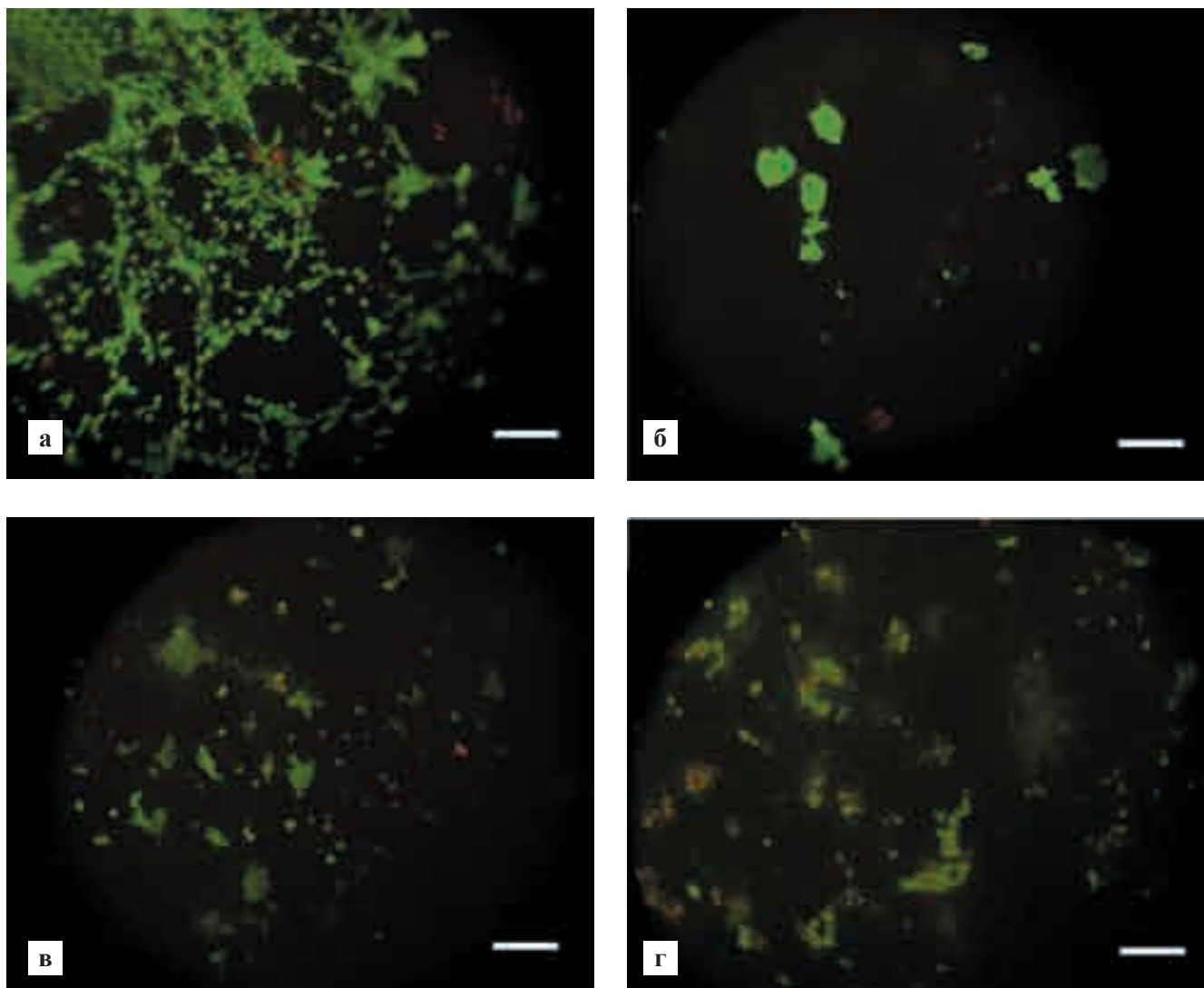


Рис. 3. Фибробласты мыши линии NIH/3T3 на поверхности: а – культурального пластика (КП); б – образца 1 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 26% ГВ); в – образца 2 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ); г – образца 3 (п(3-ГБ-со-3-ГВ), 12% ГВ + 20% ПЭГ). Время культивирования – 72 ч. Окрашивание Live/dead® Viability/Cytotoxicity Kit (Invitrogen, Великобритания). Бар 100 мкм

сты на образце 3 монослая не достигали. Данные по исследованию жизнеспособности фибробластов на поверхности исследуемых пленок (рис. 3) показали, что через 72 ч на всех исследуемых поверхностях клетки жизнеспособны. Наибольшее количество распластанных фибробластов наблюдается в контроле, в то время как на остальных образцах клетки имеют преимущественно округлую морфологию и собраны в конгломераты. Наибольшее количество мертвых клеток обнаружено на образце 3.

Было показано, что микрошероховатость поверхности (100 нм – 100 мкм) стимулирует дифференцировку клеток в остеогенном направлении [5]. Например, первичные остеобласты крысы на поверхности с шероховатостью порядка 0,81 мкм активнее пролиферируют и имеют повышенный уровень активности щелочной фосфатазы и экспрессии остеокальцина по сравнению с гладкой поверхностью (меньше 1 мкм). Аналогичный эффект на-

блюдали с эмбриональными остеобластами человека (hFOB 1.19) [10]. Обнаружено, что при культивировании на поверхности с шероховатостью порядка 13 нм фибробласты человека показывают высокую адгезионную и пролиферативную активность, повышение уровня экспрессии белков и активности цитоскелета. При шероховатости субстрата порядка 95 нм существенно снижается даже первоначальная адгезия фибробластов [7, 9].

Другие авторы продемонстрировали увеличение адгезии фибробластов человека и усиление ранних межклеточных взаимодействий на поверхностях с шероховатостью 20 и 50 нм [12].

Таким образом, на поверхности культурального пластика с шероховатостью порядка 10 нм фибробласты мыши линии NIH/3T3 прочно прикреплялись, распластывались, пролиферировали и демонстрировали интенсивную метаболическую активность. В ряду исследованных образцов бактериаль-

ного сополимера при увеличении шероховатости поверхности с  $92,0 \pm 7,0$  до  $588,8 \pm 16,0$  нм наблюдается существенное снижение адгезии и метаболической активности клеток. Фибробласты мыши линии NIH/3T3 слабо удерживаются на поверхности исследуемых пленок и легко смываются с поверхности субстрата в процессе отмытки и окраски.

Известно, что сополимеры п(3-ГБ-со-3-ГВ) в зависимости от содержания гидроксивалерата отличаются по своим физико-химическим свойствам [1]. Ранее нами было показано, что введение 20% ПЭГ в объем сополимера п(3-ГБ-со-3-ГВ) с содержанием 26% ГВ повышало гидрофильность, приводило к снижению шероховатости на воздухе до  $57,9 \pm 2,0$  нм, что способствовало адгезии, расплыванию и пролиферации фибробластов мыши линий L929 и NIH/3T3 и мезенхимальных стромальных фибробластоподобных клеток крысы [1, 3]. В данной работе добавление ПЭГ драматически повысило шероховатость сополимера п(3-ГБ-со-3-ГВ) с содержанием 12% ГВ, что привело к существенному снижению процессов адгезии и пролиферации фибробластов мыши линии NIH/3T3 на поверхности исследуемых образцов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Добавление ПЭГ в состав бактериальных сополимеров одного состава, но отличающихся соотношением мономерных составляющих, по-разному влияет как на физико-химические свойства поверхности (морфология, шероховатость), так и характер ее взаимодействия с клеточными культурами.

Найденный эффект необходимо учитывать при выборе области применения имплантатов на основе бактериальных сополимеров. Так, введение ПЭГ в бактериальный сополимер с 26% ГВ приводит к снижению шероховатости и способствует адгезии, расплыванию и пролиферации фибробластов мыши, что является необходимым функциональным свойством матрикса тканеинженерной конструкции. При концентрации 12% ГВ присутствие ПЭГ в сополимере, напротив, существенно увеличивает шероховатость поверхности и снижает процессы адгезии и пролиферации фибробластов. Такие материалы целесообразно использовать для профилактики образования спаечных процессов, например, в виде биодegradуемого искусственного перикарда при операциях на открытом сердце или при герниопластике грыж передней брюшной стенки в качестве покрытий сетчатых полимерных имплантатов. Естественно, что характер взаимодействия имплантата с клетками будет зависеть не только от физико-химических свойств поверхности материала, но и от вида клеточной культуры. В связи с этим для каждого вида клеток необ-

ходимо проведение дополнительных исследований по выяснению влияния физико-химических свойств поверхности на процессы адгезии и пролиферации клеточных культур.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И.* Полиоксиданоксиды – биоразрушаемые полимеры для медицины: Монография. 2-е изд., дополн. и переработ. Красноярск, 2006. 288 с.
2. *Севастьянов В.И., Перова Н.В., Немец Е.А. и др.* Примеры экспериментально-клинического применения биосовместимых материалов в регенеративной медицине // Биосовместимые материалы (учебное пособие); под ред. В.И. Севастьянова, М.П. Кирпичникова. Часть II. Глава 3. М.: МИА, 2011. С. 237–252.
3. *Сургученко В.А.* Матрицы для тканевой инженерии и гибридных органов // Биосовместимые материалы (учебное пособие); под ред. В.И. Севастьянова, М.П. Кирпичникова. Часть II. Глава 1. М.: МИА, 2011. С. 199–228.
4. *Bartolo L.D., Rende M., Morelli S. et al.* Influence of membrane surface properties on the growth of neuronal cells isolated from hippocampus // *Journal of Membrane Science*. 2008. Vol. 325. P. 139–149.
5. *Chang H.-I., Wang Y.* Cell responses to surface and architecture of tissue engineering scaffolds in Regenerative medicine and tissue engineering – Cells and Biomaterials ed. By Daniel Eberli. 2011. P. 569–588.
6. *Chung T.-W., Liu D.-Z., Wang S.-Y. et al.* Enhancement of the growth of human endothelial cells by surface roughness at nanometer scale // *Biomaterials*. 2003. Vol. 24. P. 4655–4661.
7. *Dalby M.J., Riehle M.O., Sutherland D.S. et al.* Morphological and microarray analysis of human fibroblasts cultured on nanocolumns produced by colloidal lithography // *European Cells and Materials*. 2005. Vol. 9. P. 1–8.
8. *Kikuchi M., Kanama D.* Current status of biomaterial research focused on regenerative medicine // *Quarterly Review*. 2007. 24. P. 51–67.
9. *Kumbar S.G., Kofron M.D., Nair L.S. et al.* Cell behavior toward nanostructured surfaces in Biomedical Nanostructures / Edited by Kenneth E. Gonsalves, Craig R. Halberstadt, Cato T. Laurencin, Lakshmi S. Nair. 2008. P. 261–287.
10. *Lim J.Y., Hansen J.C., Siedlecki C.A. et al.* Human foetal osteoblastic cell response to polymer-demixed nanopographic interfaces // *Journal of Royal Society Interface*. 2005. Vol. 2. P. 97–108.
11. *Singhvi R., Stephanopoulos G., Wang D.I.C.* Effects of substratum morphology on cell physiology // *Biotechnol. and Bioeng.* 1994. Vol. 43 (8). P. 764–771.
12. *Xu H., Bhavsar Z.A., Nguyen K.T.* Nanoparticles-incorporated scaffolds for tissue engineering applications in Nanotechnology in tissue engineering and regenerative medicine / Edited by Ketul Popat. 2011. Part 14. P. 14-1 – 14-17.

## ПРИМЕНЕНИЕ ГОМОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ДОНОРСКИХ РОГОВИЦ ПРИ ХРАНЕНИИ В НОРМОТЕРМИЧЕСКОМ И ГИПОТЕРМИЧЕСКОМ РЕЖИМАХ

*Борзенко С.А.<sup>1</sup>, Ролик О.И.<sup>1</sup>, Онищенко Н.А.<sup>2</sup>, Комах Ю.А.<sup>1</sup>, Делекторская В.В.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Росмедтехнологий, г. Москва

<sup>2</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

<sup>3</sup> Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

Исследовано защитное действие тканеспецифических регуляторных пептидов на эндотелиальные клетки (ЭК) изолированных донорских роговиц при хранении в нормотермическом (до 24 суток) и гипотермическом (до 9 суток) режимах. Проанализирована динамика ультраструктурных изменений в эндотелиальных клетках в процессе хранения, изменения их плотности, показателя гексагональности и средней площади клеток, проведена электронная микроскопия. Установлено, что тканеспецифические регуляторные пептиды оказывают защитное действие на ультраструктурную архитектуру ЭК донорских роговиц, повышают плотность межклеточных контактов, увеличивая допустимые сроки органного культивирования до 16 суток и гипотермической консервации до 9 суток.

*Ключевые слова: эндотелий роговицы, трансплантат роговицы, цитоплазматические пептиды, регуляторные пептиды, консервация роговицы.*

## THE USE OF HOMOLOGOUS CELLULAR PEPTIDES DURING MEDIUM-TERM CORNEAL ORGAN CULTURE AND CORNEAL COLD STORAGE

*Borzenok S.A.<sup>1</sup>, Rolik O.I.<sup>1</sup>, Onischenko N.A.<sup>2</sup>, Komakh Y.A.<sup>1</sup>, Delektorskaya V.V.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> The Fedorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow

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

<sup>3</sup> N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow

There was studied of protective effects of homologous cellular peptides on corneal graft endothelium cells during the corneal organ culture (24 days) and corneal cold storage (9 days). The dynamic of endothelial cells (EC) ultrastructural changes during the storage, decrease of endothelial cells density, percentage of hexagonal-shape cells, average area and electronic microscopy were analysed. Tissue-specific regulatory corneal peptides exhibited clear protective effect on ultra structure of grafts' endothelial cells during the preservation, increase density cell-cell contact, prolong term of organ culture (till 16 days) and cold storage (till 9 days).

*Key words: cornea endothelium cells, corneal graft, cytoplasm peptides, regulatory peptides, cornea preservation.*

*Статья поступила в редакцию 09.01.12 г.*

**Контакты:** Ролик Ольга Ивановна, аспирант Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Росмедтехнологии.

**Тел.** 8 926 677 58 05, **e-mail:** oktarin@mail.ru



## ВВЕДЕНИЕ

Проблема трупного тканевого донорства и трансплантации жизнеспособной роговицы является одним из наиболее сложных и актуальных разделов офтальмологии [1, 3, 5, 14, 15].

Для прозрачного приживления сквозного трансплантата роговицы необходима максимальная сохранность морфофункционального состояния его эндотелиальных клеток (ЭК), обеспечивающих нормальную гидратацию и прозрачность посредством осуществления ими энергозависимой транспортной и насосной функций [14]. ЭК роговицы являются высокодифференцированными клетками и имеют нейроглиальное происхождение [2, 7, 8, 13]. Так как биологически ЭК не способны к митотической регенерации, то при их значительной потере в посттрансплантационном периоде возникает сначала функциональная декомпенсация, а затем необратимое помутнение трансплантата [14].

В изолированных трупных роговицах уже на этапе консервации в нормотермическом и гипотермическом режимах происходит дизрегуляция энергетического метаболизма, в результате чего в ЭК возникает ряд морфофункциональных перестроек, сопровождающихся ослаблением межклеточных взаимодействий, десквамацией ЭК и снижением их жизнеспособности [12, 14].

Выкраивание и фиксация роговичного трансплантата при сквозной и задней послойной кератопластиках также сопровождаются потерей ЭК, в связи с чем исходная плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) является определяющей для сохранения функции роговицы после трансплантации и по данным должна быть не менее 2800–3000 кл/мм<sup>2</sup> [15].

В этой связи пролонгирование адекватного метаболизма и повышение жизнеспособности ЭК трупных донорских роговиц на этапе их консервации является крайне важной и актуальной задачей [1].

Анализ публикаций по проблеме культивирования и консервации изолированных донорских роговиц позволяет прийти к заключению, что пролонгирование адекватного метаболизма в трансплантатах роговицы, повышающего морфофункциональную резистентность ее ЭК к воздействию ишемического и гипотермического стрессов [10], может быть достигнуто путем усовершенствования составов консервационных сред.

Наибольшие возможности в плане совершенствования противоишемической защиты и защиты от гипотермического повреждения создает включение в культуральные среды и консервирующие растворы различных биологически активных веществ, которые, пролонгируя энергетические и пластические процессы, повышают эффективность межклеточных взаимодействий и формируют плотность межклеточных контактов [16–18].

В целях восстановления и поддержания структуры и функции ЭК трупных донорских роговиц в процессе их хранения значительный интерес представляют фармакологические препараты на основе регуляторных клеточных пептидов, полученных из тканей глаза. К таким препаратам нового поколения относятся цитамины отечественного производства [4, 9] и тканевая панель препаратов NeyDIL импортного производства [6, 11]. К сожалению, отечественная фармакологическая промышленность не производит препаратов регуляторных пептидов с адресным действием к эндотелиальным клеткам роговицы. До настоящего времени единственным органотропным препаратом, полученным из регуляторных пептидов клеточной цитоплазмы эмбриональных роговых оболочек промышленных животных, является препарат NeyDIL Nr.37 «Cornea», который выпускается немецкой фирмой «VitOrgan», имеющий Государственную регистрацию в Российской Федерации.

Между тем данных о возможности повышения качества защиты изолированных трупных донорских роговиц от повреждения с помощью гомологичных регуляторных пептидов на этапе нормотермического культивирования и гипотермической консервации в литературе нет. Прямая зависимость результата трансплантации роговицы от исходной жизнеспособности и плотности сцепления ЭК между собой послужила основанием для изучения эффективности применения органотропных регуляторных пептидов роговиц – препарата NeyDIL Nr.37 для улучшения морфофункциональной сохранности ЭК и повышения резистентности трупной донорской роговицы к действию неблагоприятных факторов нормотермического органного культивирования и гипотермической консервации.

Материалы и методы

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были отобраны 40 трупных роговиц от доноров зрелого возраста (средний возраст составил  $32 \pm 4$  года). Срок ишемии роговиц (от смерти до консервации) составлял не более 12 часов.

В качестве биологически активной добавки использовали моноорганный препарат NeyDIL Nr.37, полученный из фетальных и ювенильных роговиц крупного рогатого скота и содержащий гомологичные клеточные пептиды роговицы в концентрации 100 мкг/мл.

Проведенные исследования включали две серии наблюдений. Первая серия – изучение возможности повышения качества донорских роговиц, культивированных в нормотермических условиях при +35 °C

в CO<sub>2</sub>-инкубаторе с концентрацией CO<sub>2</sub> – 5%. При этом на 20 парных роговицах от 10 доноров применялись стандартные культуральные среды с добавлением 5% декстранов, но без добавления фетальной бычьей сыворотки, чтобы исключить влияние содержащихся в ней факторов роста на эндотелий, культивированных донорских роговиц.

В первой серии наблюдались две группы: опытная (n = 10) и контрольная (n = 10). В опытной группе среда дополнительно содержала пептидный препарат NeuDIL Nr.37, в концентрации 1 мкг/мл среды. Сроки культивирования в опытной и контрольной группах составляли 8, 16 и 24 дня, в те же сроки проводился анализ морфометрических и ультраструктурных характеристик эндотелиальных клеток.

Вторая серия экспериментов была выполнена на донорских роговицах, консервированных в гипотермических условиях при +6 °С в среде Борзенка–Мороз (n = 20 пар роговиц от 10 трупных доноров) и также включала опытную (n = 10) и контрольную (n = 10) группы.

В опытной группе в среду Борзенка–Мороз добавляли пептидный препарат NeuDIL Nr.37 в дозе 1 мкг/мл среды. Сроки консервации составили 3, 6, 9 суток, в эти же сроки проводился анализ морфометрических и ультраструктурных характеристик эндотелиальных клеток с помощью электронной сканирующей и трансмиссионной микроскопии.

Электронная сканирующая микроскопия проводилась на растровом ионно-электронном микроскопе Quanta 200 3D (Голландия) с возможностью проведения исследований объектов в режиме естественной среды без применения глубокого вакуума, напыления и жесткой фиксации с помощью альдегидов, что не нарушало архитектоники и морфометрии клеток.

Для трансмиссионного электронно-микроскопического исследования материал фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида по стандартной методике с последующей заливкой в эпоксидную смолу ЭПОН-812. Ультратонкие и полутонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-III (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1200 EX II (Япония).

Исследования плотности ЭК (ПЭК), площади и показателя гексагональности ЭК донорских роговиц проводились неинвазивным способом с помощью компьютерного кератоанализатора для глазных банков Копап (Япония). Для подсчета ПЭК, а также для более полной оценки состояния эндотелиального пласта применялся инвертированный световой микроскоп 307 – 143.003 Leitz Wetzlar

GmbH (Германия) с цифровой камерой-окуляром DCM510 (Китай).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что в норме эндотелий роговицы характеризуется цитоплазмой, богатой органеллами, содержащей большое количество митохондрий. Обильное содержание органелл в цитоплазме обеспечивает выполнение эндотелием важнейших энергозатратных трансмембранных насосных функций, при нарушении которых роговица быстро набухает и мутнеет. Кроме того, гексагональная форма ЭК обеспечивает наибольшую прочность межклеточных контактов, и ее нарушение ведет к ослаблению межклеточного взаимодействия и снижению их функций. Поэтому при оценке результатов сохранения изолированных роговиц в нормотермическом и гипотермическом режимах мы в первую очередь обращали внимание на ультраструктурную сохранность митохондриального аппарата эндотелиальных клеток, а также на особенности их морфометрических характеристик.

### Культивирование роговиц в нормотермических условиях

На 8-е сутки культивирования роговиц трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) не выявила ультраструктурных отличий между опытной и контрольной группой. Ультраструктура митохондриальных крист и мембран эндотелия обеих групп соответствовала норме (рис. 1, а, б). На 16-е сутки культивирования в контрольной группе отмечалась отечность митохондриальных мембран, выявлялись равномерно вымытый митохондриальный матрикс и небольшая сглаженность митохондриальных крист (рис. 1, г). В опытной группе на 16-е сутки изменений в митохондриальных мембранах и кристах не было обнаружено (рис. 1, в). Наибольшая разница между опытной и контрольной группами проявилась на 24-е сутки инкубирования. В опыте отмечалось незначительное сглаживание митохондриальных крист, в контроле митохондрии приобретали округлую форму, в набухших митондриях выявлялось частичное, а иногда и полное разрушение крист; кроме этого, появилась картина паренхиматозной дегенерации и необратимости нарушения клеточных процессов, что проявлялось осаждением клеточных белков в матриксе цитоплазмы эндотелиальных клеток (рис. 1, д, е).

При сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в контрольной группе к 24-му дню были выявлены значительный полиморфизм, то есть наличие клеток с различными диагональными размерами и различной площадью, единичные клетки ги-

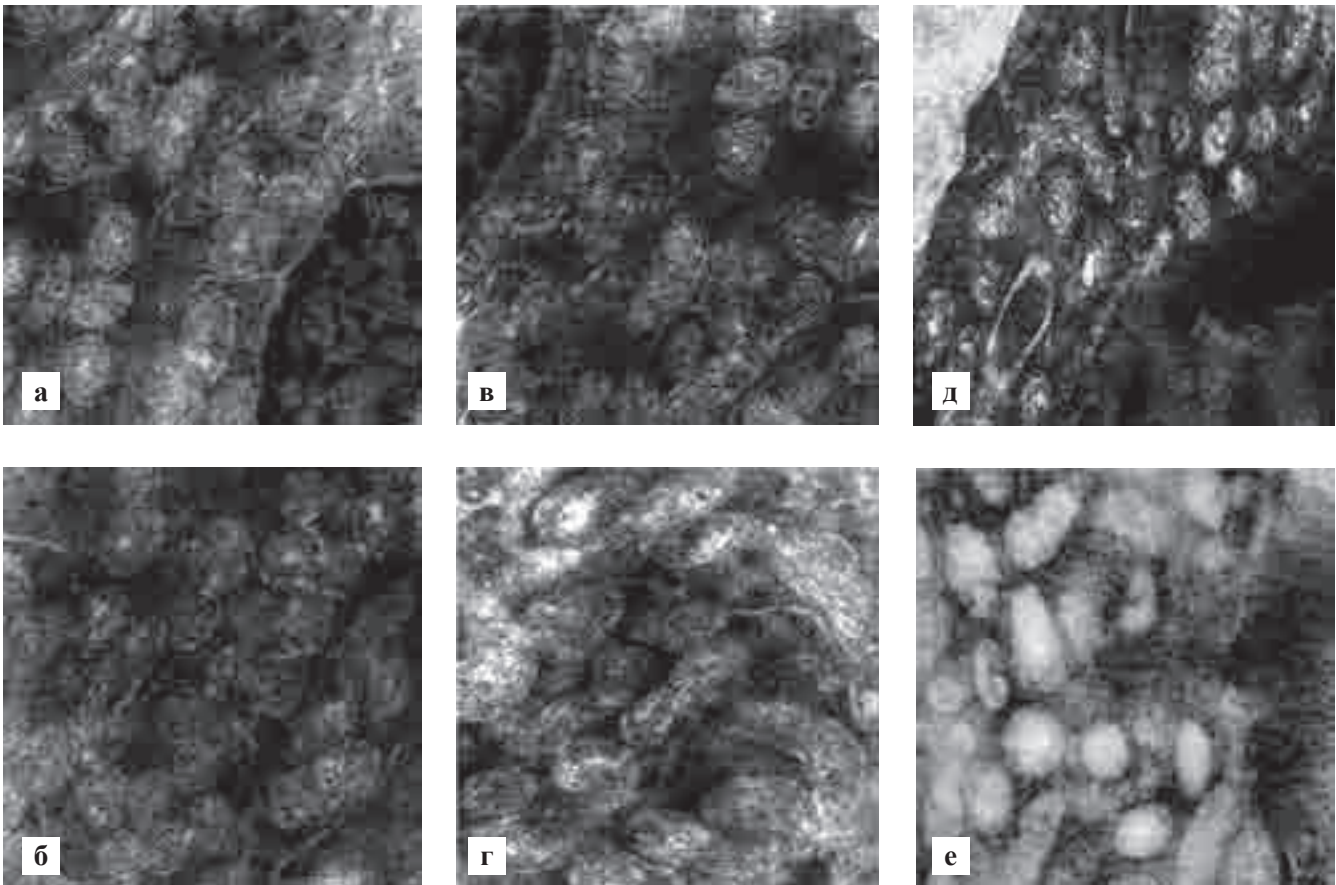


Рис. 1. ТЭМ митохондрий в эндотелиальных клетках донорских роговиц из опытной (а, в, д) и контрольной (б, г, е) групп, культивированных в нормотермических условиях ( $t = +35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в течение различных сроков,  $\times 20\ 000$ : а, б – 8-е сутки культивирования, ультраструктурных отличий между опытной и контрольной группой не выявлено; в, г – 16-е сутки, в опыте изменений не выявлено, в контроле отчетность митохондриальных мембран, вымытый митохондриальный матрикс, сглаженность митохондриальных крист; д, е – 24-е сутки, в опыте сглаживание митохондриальных крист, в контроле в набухших митохондриях выявляется частичное, а иногда и полное разрушение крист, картина паренхиматозной дегенерации

гантского размера (рис. 2, в). В опытной группе эндотелиальные клетки сохранили мономорфизм и гексагональность, даже в области складок роговицы (рис. 2, а). При максимально эффективном увеличении в контрольной группе отмечено уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, обусловленное деструкцией билипидного слоя мембран (рис. 2, г), что не наблюдалось в опытной группе (рис. 2, б).

Анализ изменений плотности эндотелиальных клеток (ПЭК) показал, что достоверная разница между контрольной и опытной группами появляется на 16-е сутки культивирования: в опытной группе снижение ПЭК достигает 4,8%, тогда как в контрольной группе – 6,3% при максимально допустимых значениях до 5%. Через 24 дня органного культивирования анализ ПЭК показал, что потеря ЭК в опытной группе составила 6,1%, в контрольной – 9,7%, то есть и в опытной, и в контрольной группах превысила допустимые значения.

Площадь ЭК через 16 суток культивирования в опытной группе увеличилась на 0,92%, а в кон-

троле – на 2,57%; а к 24-м суткам культивирования площадь эндотелиальных клеток в опыте увеличилась на 3,3%, в контроле – на 4,6%. Процент гексагональных клеток на 16-е сутки культивирования в опыте уменьшился на 5,54%, а в контроле – на 22,27%. К 24-м суткам культивирования этот показатель составил 12,68 и 33,03% соответственно, т. е. в опыте уменьшился всего на 12%, в контроле – почти в 3 раза, то есть на 33%. Оценка результатов изменения ПЭК и анатомического строения ЭК в процессе культивирования позволяет прийти к заключению, что гомологичные клеточные пептиды роговицы увеличивают сроки культивирования до 16 суток.

### Гипотермическая консервация роговицы

При трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) на 3-и сутки гипотермической консервации не было выявлено существенной разницы в ультраструктурной архитектонике эндотелиальных клеток опытной и контрольной групп (рис. 3, а, б). Но

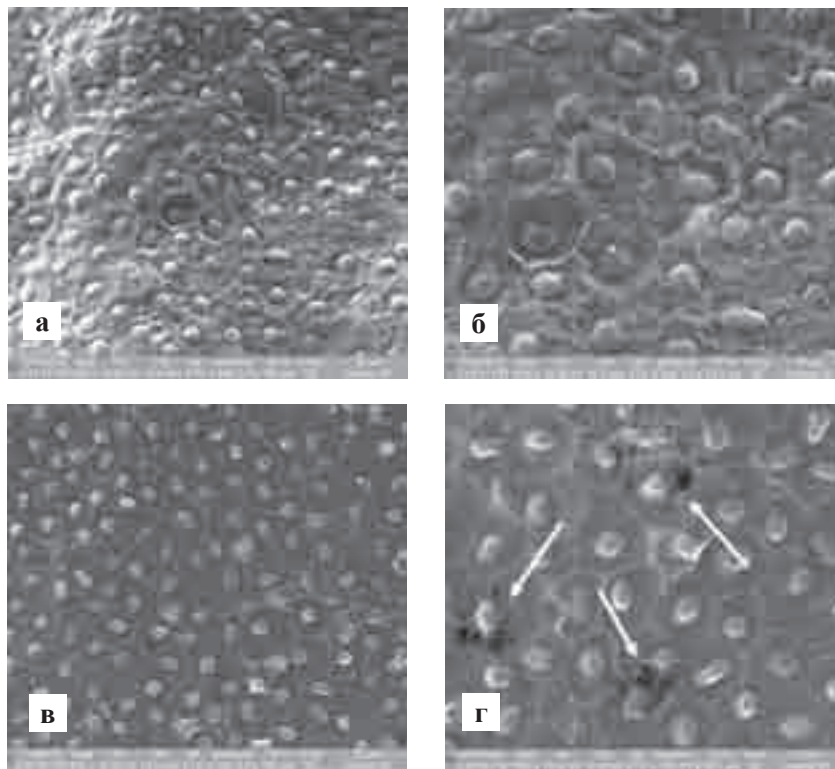


Рис. 2. СЭМ эндотелиального пласта роговиц в опытной (а, б) и в контрольной (в, г) группах, культивированных в нормотермических условиях при  $t = +35\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 24 суток: а, б –  $\times 800$ , в контроле – значительный полиморфизм и полимегетизм, в опыте эндотелиальные клетки сохранили мономорфизм и гексагональность; б, г –  $\times 1600$ , в опыте клетки без изменений электронно-оптической плотности, в контроле – уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, выраженная деструкция липидного бислоя мембран

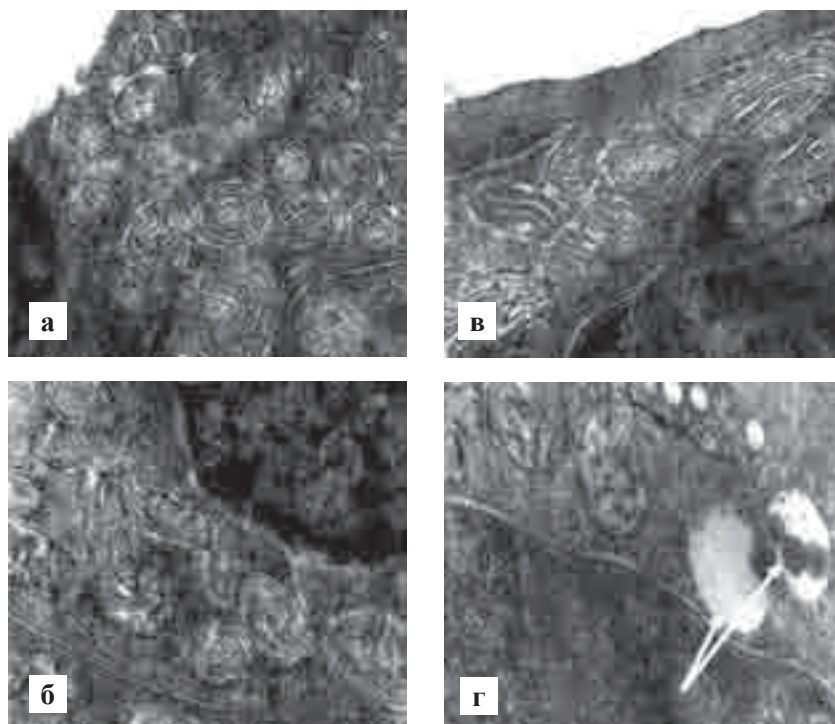


Рис. 3. ТЭМ митохондрий в эндотелиальных клетках донорских роговиц опытной (а, в) и контрольной (б, г) групп после гипотермической консервации ( $t = +6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) на разных сроках,  $\times 20\text{ }000$ : а, б – 3-и сутки консервации, ультраструктурных отличий между опытом и контролем не выявлено; в, г – 6-е сутки консервации, в опыте без изменения, в контроле в эндотелиальных клетках наряду с ультраструктурно сохраненными органеллами присутствуют митохондрии с прозрачным матриксом, кристы которых либо отсутствуют, либо фрагментированы

на 6-е сутки консервации в эндотелиальных клетках контрольной группы наряду с ультраструктурно сохранными органеллами обнаруживается присутствие митохондрий с совершенно прозрачным матриксом, кристы которых либо отсутствовали либо были фрагментированы (рис. 3, г). На 9-е сутки консервации в эндотелиальных клетках роговиц опытной группы митохондрии приобретали округлую форму, отмечался начинающийся отек митохондриальных мембран, кристы митохондрий были сохранены (рис. 4, а, б), в то время как в контроле выявлены грубые ультраструктурные изменения клеток – цитоплазма фрагментирована, цитоплазматический матрикс просветлен, в нем видны многочисленные пузырьки различного размера и практически полное отсутствие сохранных органелл, что является явным признаком их аутолиза (рис. 4, в, г).

При сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на 9-е сутки в опыте отмечалось появление гигантских клеток, но клетки сохранили гекса- и пентагональность (рис. 5, а, б). В контроле выявлено выраженное разрушение межклеточных контактов и уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, свидетельствующих о деструкции цитоскелета и липидного бислоя мембран, чего не наблюдалось в опытной группе (рис. 5, в, г).

Было проведено дополнительное электронно-микроскопическое исследование роговиц опытной

и контрольной групп на 12-е сутки консервации. И в опытной, и в контрольной группах были выявлены грубые ультраструктурные повреждения пласта эндотелия.

За 9-е сутки гипотермической консервации потеря ЭК в опытной группе составила 4,1%, в контрольной – 7,2%, то есть снижение ПЭК в опытной группе не превышало предельно допустимых значений.

Площадь клеток в опыте увеличилась на 1,8%, в контроле на 2,9%, процент гексагональных клеток к 9-м суткам в опыте снизился всего на 6,86%, а в контроле – на 28%, свидетельствуя о значительно лучшей сохранности клеток в опытной группе к 9-м суткам консервации роговицы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненное исследование показало, что включение регуляторных клеточных пептидов в среды для органного нормотермического культивирования и гипотермической консервации донорских роговиц повышает протективные свойства сред, используемых для пролонгированного сохранения изолированных роговиц, повышает их жизнеспособность и увеличивает допустимые сроки их хранения. Об этом свидетельствуют более длительное сохранение ультраструктуры ми-

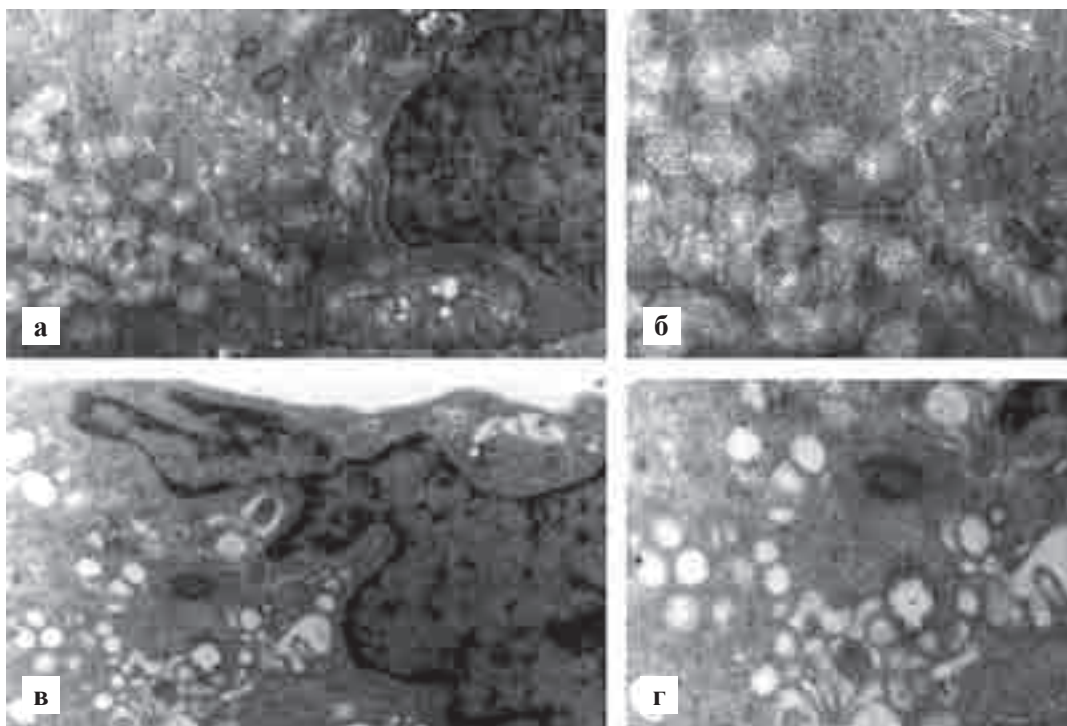


Рис. 4. ТЭМ митохондрий в эндотелиальных клетках донорских роговиц в опытной (а, б) и контрольной (в, г) группах после гипотермической консервации ( $t = +6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в течение 9 суток: а, б – начальный отек митохондриальных мембран, митохондрии округлой формы, кристы митохондрий сохранены, а –  $\times 10\,000$ , б –  $\times 20\,000$ ; в, г – грубые ультраструктурные изменения, цитоплазма фрагментирована, цитоплазматический матрикс просветлен, в нем видны многочисленные пузырьки различного размера, практически полное отсутствие сохранных органелл, в –  $\times 10\,000$ , г –  $\times 20\,000$

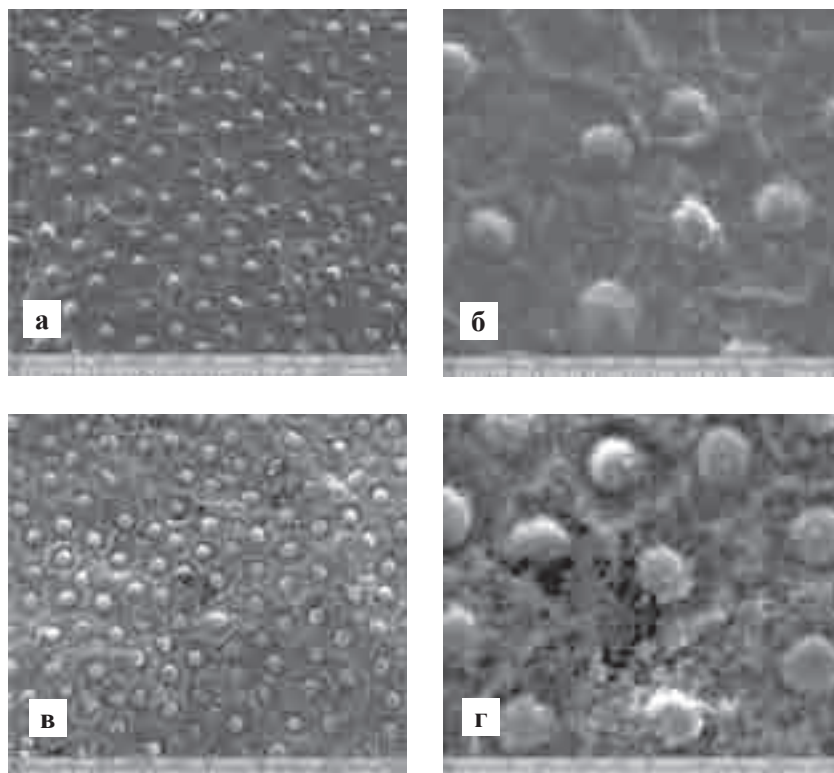


Рис. 5. СЭМ эндотелия донорских роговиц в опытной (а, б) и контрольной (в, г) группах после гипотермической консервации ( $t = +6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) в течение 9 суток: а, б – выражен полимегитизм, но клетки сохранили гекса- и пентагональность а –  $\times 800$ , б –  $\times 3000$ ; в, г – выраженное разрушение межклеточных контактов, уменьшение электронно-оптической плотности внутри клеток, деструкция цитоскелета и липидного бислоя мембран, в –  $\times 800$ , г –  $\times 3000$ .

тохондрий ЭК, снижение темпа потери ЭК и более высокий процент сохранения гексагональных клеток в эндотелиальном монослое, что по данным ТЭМ и СЭМ обусловлено протективным действием на липопротеидный бислой клеточных мембран.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борзенко С.А. Медико-технологические и методологические основы эффективной деятельности глазных тканевых банков России в обеспечении операций по сквозной трансплантации роговицы: Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008. С. 309.
2. Вит В.В. Строение зрительной системы человека. Одесса: АстроПринт, 2003. 655 с.
3. Каспаров А.А., Ермаков Н.В., Раннопорт Ю.М. Эндотелий трансплантата донора после сквозной кератопластики // Вестн. офтальмол. 1990. Т. 106. № 5. С. 12–16.
4. Максимов И.Б. Применение препарата ретиналамин в офтальмологии: Пособие для врачей. СПб., 2005. 20 с.
5. Мороз З.И., Тахчиди Х.П., Калинин Ю.Ю. и др. Современные аспекты кератопластики // Федоровские чтения – 2004. «Новые технологии в лечении заболеваний роговицы». М., 2004. С. 280–288.
6. Ролик И.С. Пептидотерапия: клиническое применение. М.: РегБиоМед, 2010. 448 с.
7. Ронкина Т.И. Закономерности возрастных изменений эндотелия роговицы человека в норме и патологии, возможности активации пролиферации эндотелия и их назначение в офтальмологии: Дис. ... д-ра мед. наук в форме науч. доклада. М., 1994. 48 с.
8. Федоров С.Н., Ронкина Т.И., Явешева Т.М. Эндотелий роговицы человека. М.: МНТК «Микрохирургия глаза», 1993. 126 с.
9. Хавинсон В.Х., Трофимова С.В. Пептидные биорегуляторы в офтальмологии // СПб., 2003. 44 с.
10. Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Курпатовский В.И. Фармакологическая защита трансплантата. М.: Медицина, 1983. 232 с.
11. Heine H. Wissenschaftliche Grundlagen der Organtherapie // Tierärztliche Umschau. 1996.51. P. 71–73.
12. Hsu J.K.W., Cavanagh H.D., Jester J.V. et al. Changes in corneal endothelial apical functional protein organization after corneal cold storage // Cornea. 1999. Vol. 18. № 6. P. 712–720.
13. Hwang D.G. Proliferative Capacity of the Corneal Endothelium // V World Cornea Congress. Washington, DC, 2005. P. 16.
14. Krachmer J.H., Mannis M.J., Holland E.J. Cornea. Fundamentals, Diagnosis and Management: 2<sup>nd</sup> Edition. Elsevier-Mosby, 2005. Vol. 1. 1409 p.
15. Melles G.R., Eggink F., Lander F. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty // Cornea. 1998. № 17. P. 618–626.

16. *Tripathi B.J., Kwait P.S., Tripathi R.C.* Corneal growth factors: a new generation of ophthalmic pharmaceuticals // *Cornea*. 1992. Vol. 9. P. 2–9.
17. *Vincent P. T. Hoppenreijns, Elisabeth Pels, Gijs F.J. M. Vrensen and W. Frits Treffers.* Basic fibroblast growth factor stimulates corneal endothelial cell growth and endothelial wound healing of human corneas // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994. Vol. 35. № 3. P. 931–944.
18. *Xin Gu, EunDuck P. Kay.* Distribution and Putative Roles of Fibroblast Growth Factor-2 Isoforms in Corneal Endothelial Modulation // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998. Vol. 39. № 12. P. 2252–2258.

### 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 2012 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

**ВЕСТНИК**  
ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ИСКУССТВЕННЫХ  
ОРГАНОВ

**ДОСТАВочная КАРТОЧКА**

на журнал **80248**  
(индекс издания)

на 2012 год по месяцам

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----

Куда \_\_\_\_\_  
(почтовый индекс) \_\_\_\_\_ (адрес)

Кому \_\_\_\_\_  
(фамилия, инициалы)

85

## ТЕХНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОСУДИСТОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЛЕВОГО ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕКТОРА ПЕЧЕНИ ВЗРОСЛОГО ДОНОРА В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

*Готье С.В., Ахаладзе Д.Г.*

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»  
Минздравсоцразвития России, г. Москва

Ключом к успешной трансплантации левого латерального сектора печени является адекватное восстановление афферентного и эфферентного кровотоков трансплантата. В мире накоплен богатый опыт выполнения подобных оперативных вмешательств. Известно множество разнообразных вариантов выполнения гепатико-кавальной, портальной и артериальной реконструкций. Разнообразие практикуемых в мире вариантов хирургического исполнения сосудистых анастомозов представлено в настоящей публикации.

*Ключевые слова: трансплантация печени, левый латеральный сектор печени, гепатико-кавальная, портальная, артериальная реконструкции.*

## TECHNICAL ASPECTS OF VASKULAR RECONSTRUCTION IN PEDIATRIC LEFT LATERAL SEGMENT TRANSPLANTATION

*Gautier S.V., Akhaladze D.G.*

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

The most important factor in the successful liver left lateral segment transplantation is the graft adequate afferent and efferent blood flow restoration. Modern experience of similar surgical operations includes different variants of hepatico-caval and portal venous and arterial reconstructions. Wide spectrum of surgical versions of the vascular anastomoses is presented in the present review.

*Key words: liver transplantation, liver left lateral segment, hepatico-caval, portal, arterial reconstructions.*

Хирургическая техника трансплантации печени (ТП) прогрессировала в ногу с совершенствованием анестезиологического пособия и развитием фармакологического обеспечения, что позволило расширить критерии отбора реципиентов. Однако при постоянно нарастающем числе пациентов, ожидающих трансплантации, общество столкнулось с проблемой дефицита трупных органов, особенно в педиатрической практике, поскольку посмертное детское донорство в большинстве стран ограничено.

Развиваясь наиболее бурно в последнее десятилетие XX столетия, родственная трансплантация печени стойко зарекомендовала себя как метод

борьбы с дефицитом трупных органов и, дав шанс на спасение преимущественно детского контингента пациентов, получила распространение во множестве стран мира.

Трансплантация левого латерального сектора (ЛЛС) взрослого донора детям подразумевает ряд технических сложностей при восстановлении как эфферентного, так и афферентного кровотоков. Единый подход в формировании сосудистых анастомозов при трансплантации ЛЛС печени, полученного как от живого родственного донора, так и при сплит-трансплантации печени, отсутствует, что связано с множеством анатомических вариантов реципиента.

*Статья поступила в редакцию 16.12.11 г.*

**Контакты:** Ахаладзе Дмитрий Гурамович, врач отделения абдоминальной хирургии и трансплантации.

**Тел.** 8 905 587 89 92, **e-mail:** blissoutsurg@yahoo.com



Считаем целесообразным отдельно остановиться на наиболее распространенных технических вариантах исполнения гепатико-кавального, порто-портального и артериального анастомозов.

## ГЕПАТИКО-КАВАЛЬНАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ

Пионерами в разработке техники имплантации фрагмента печени явились Э.И. Гальперин и В.И. Шумаков, впервые в России выполнившие трансплантацию левой доли печени в гетеротопическую позицию. Тогда они столкнулись с необходимостью анастомозировать печеночную вену трансплантата с правой подвздошной веной реципиента [1].

Гепатико-кавальная реконструкция является первым этапом имплантации ЛЛС печени ребенку [20]. При этом перед хирургами встает задача в выборе подходящей техники при тех или иных вариантах строения венозного оттока от трансплантата. Некоторые зарубежные авторы путем решения последней проблемы считают использование венозных вставок и кондуитов, что, по мнению М. Malago, способно привести к затруднению венозного оттока от трансплантата [29]. Существенно разнятся и предпочитаемые методики наложения сосудистого шва, оставляя единым только прецизионный подход и необходимость использования увеличительной техники.

Ниже сформулированы основные факторы, усложняющие восстановление венозного оттока от трансплантата левого латерального сектора:

- разница в диаметре анастомозируемых сосудов (а также особенности развития нижней полой вены (НПВ) ребенка);
- количество требующих реваскуляризации печеночных вен, дренирующих ЛЛС, зависящее от конкретной ангиоархитектоники печени донора;
- отсутствие единого подхода в использовании техники сосудистого шва.





Решением первой задачи большинство авторов считают различные варианты увеличения диаметра устья левой печеночной вены трансплантата, а также комбинации использования от одного до трех устьев печеночных вен реципиента. В начале трансплантационной эры практиковался метод анастомозирования культи левой печеночной вены реципиента с левой печеночной веной трансплантата «конец в конец» [52]. Однако в связи с высокой частотой дислокации трансплантата от этой методики вскоре отказались.

Большого внимания заслуживает количество требующих реваскуляризации печеночных вен. Для решения этой проблемы целесообразно остановиться на наиболее часто встречающихся вариантах стро-

ения венозного дренажа ЛЛС печени. На протяжении многих лет анатомические варианты формирования и впадения ЛПВ и СПВ в НПВ вызвали множество дебатов среди хирургов-гепатологов и трансплантологов и явились предпосылкой к появлению различных методик формирования гепатико-кавального анастомоза. В такой ситуации, S. Orguc и M. Tercan в 2004 г. модифицировали классификацию впадения печеночных вен в НПВ P. Soyer et al. (1995), создав наиболее популярную и простую классификацию (табл.) [40].

Таблица

### Классификация анатомии левой печеночной вены

Схема анатомического варианта	Описание анатомического варианта	Частота, %
1 	Одиночный ствол левой печеночной вены	16
2 	Раздельное впадение в НПВ передней и задней ветвей левой печеночной вены	5
3 	Слияние передней и задней ветвей левой печеночной вены с образованием общего ствола	54
4 	Слияние передней и задней ветвей левой печеночной вены с образованием общего ствола + латеральная ветвь от IV сегмента	25

Выбор методики гепатико-кавальной реконструкции зависит от варианта венозного дренажа, приведенного в таблице.

В случае если сегментарные вены ЛЛС сливаются в единый ствол (вариант 1, 3), метод реконструкции не вызывает сомнений и един для всех трансплантационных клиник. При венозных дренажах, иллюстрированных схемами 2 и 4, после изъятия ЛЛС у родственного донора велика вероятность получения двух окружностей сегментарных печеночных вен (рис. 1), каждая из которых может быть самостоятельно дренирована в НПВ реципиента.

Отечественная же школа в лице С.В. Готье придерживается иного подхода, стараясь сократить количество накладываемых анастомозов, тем самым снижая риск хирургических осложнений, следуя по пути упрощения хирургической задачи. Однако в большинстве случаев целесообразно объединение в единое устье окружностей сегментарных вен на «back table» для создания одного гепатико-кавального анастомоза (рис. 2) [2].

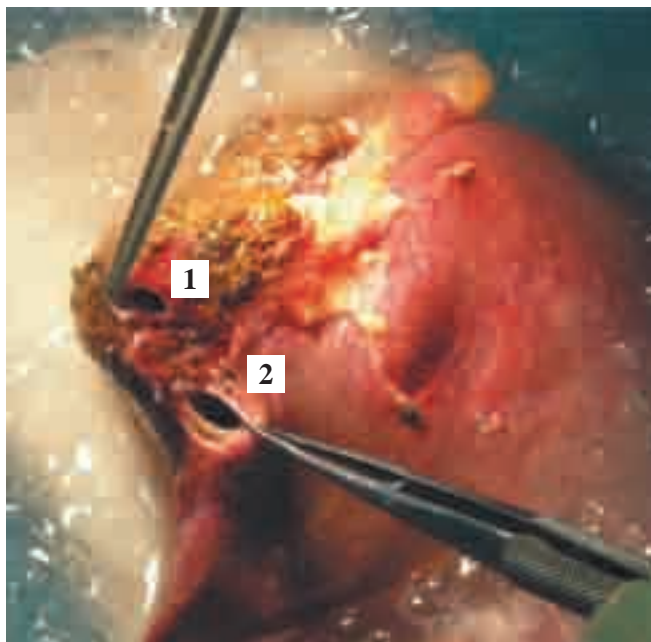


Рис. 1. Отдельные устья печеночных вен II (1) и III (2) сегментов печени донора

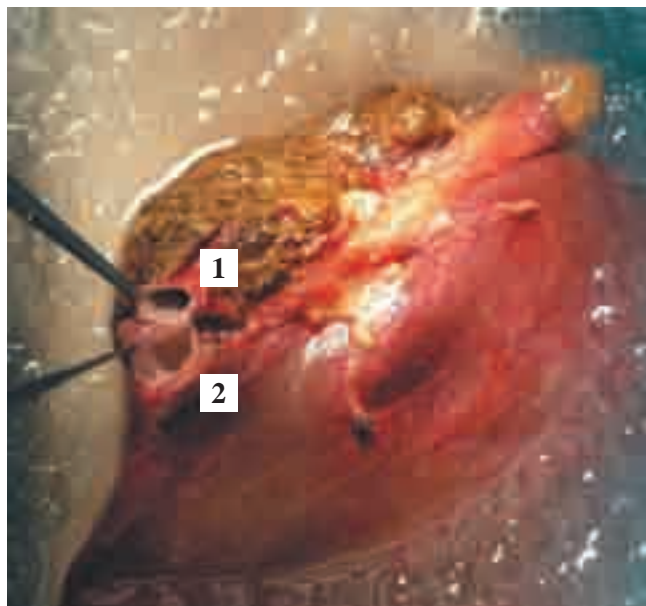


Рис. 2. Объединенные устья вен II (1) и III (2) сегментов

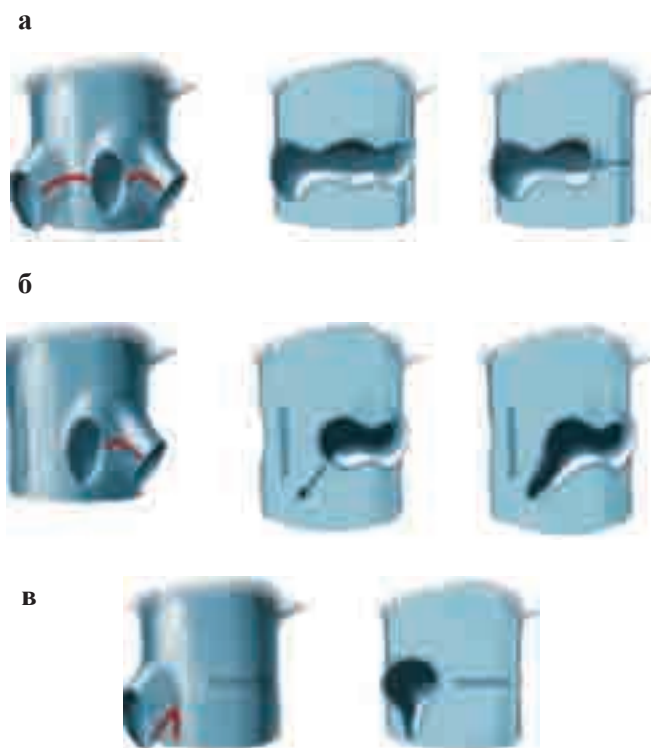


Рис. 3. Создание окна в НПВ реципиента

Для преодоления разницы диаметров анастомозируемых окружностей и создания надежного и адекватного венозного оттока от трансплантата К. Tanaka и Н. Egawa для имплантации ЛЛС в арсенале имеют 3 стандартные техники выполнения гепатико-кавального анастомоза [21].

1. Формируется единое отверстие в НПВ из трех печеночных вен реципиента (рис. 3, а).
2. Окружность из объединенных срединной печеночной вены (СПВ) и левой печеночной вены (ЛПВ) дополняется рассечением нижней полой вены (рис. 3, б).
3. Для реконструкции используется устье правой печеночной вены (ППВ), дополненное рассечением НПВ (рис. 3, в).

У. Tannuri и соавторы использовали 2 техники, практически аналогичные предыдущим. Первый вариант заключался в формировании анастомоза между окружностью донорской левой или левой и срединной печеночных вен и объединенным устьем левой и срединной печеночных вен реципиента. Второй вариант подразумевал создание широкого треугольного окна в НПВ реципиента из конfluence всех трех печеночных вен и дополнительного рассечения НПВ в нисходящем направлении. Анализируя опыт 54 трансплантаций ЛЛС печени детям с использованием двух описанных методов, авторы рекомендуют всегда придерживаться последней, аргументируя свое предпочтение отсутствием осложнений в группе пациентов из 28 детей, где использовались устья трех печеночных вен [52].

### ПОРТАЛЬНАЯ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ

Выполнение порто-портального анастомоза при совпадении диаметров и достаточной длине портальных культей донора и реципиента обычно не представляет трудностей [27, 28, 51, 57], а осложнения в виде портального тромбоза наблюдаются только в 1,0–1,8% случаев [3, 26]. Трудности при вос-

становлении портального кровотока трансплантата возникают при врожденных или приобретенных в процессе болезни окклюзиях или недоразвитии воротной вены (ВВ) реципиента. По данным J. Legut и соавт., значительные предсуществующие изменения ВВ наблюдались в 16,3% случаев, в основном у детей, и требовали предварительной тромбэктомии, или различных вариантов венозной реконструкции с использованием донорских венозных вставок, или селезеночной вены реципиента, а разница диаметров воротных вен реципиента и трансплантата левого латерального сектора присуща всему детскому контингенту пациентов [3, 10, 26].

Ниже перечислены основные препятствия, которые приходится преодолевать при выполнении портальной реконструкции при имплантации левого латерального сектора печени детям:

- несовпадение диаметров анастомозируемых культей ВВ реципиента и трансплантата;
- предсуществующий тромбоз ВВ реципиента;
- гипоплазия ВВ реципиента;
- кавернозная трансформация ВВ реципиента.

По мнению S. Saad и K. Tanaka, при ТП детям использование классического анастомоза «конец в конец» зачастую затруднительно из-за существенной разницы диаметров ВВ реципиента и фрагментарного печеночного трансплантата [43]. Подчеркивая необходимость использования альтернативной методики анастомозирования, авторы на примере 110 родственных трансплантаций ЛЛС пациентам в возрасте от 3 месяцев до 17 лет демонстрируют 4 типа порто-портальной реконструкции. ВВ печеночного трансплантата анастомозировалась:

- конец в конец с ВВ реципиента (тип I – 32%);
- с площадкой, созданной из бифуркации ВВ реципиента на левую и правую долевые ветви (тип II – 24%);
- с областью слияния верхней брыжеечной и селезеночной вен реципиента (тип III – 14%);
- конец в конец с венозной вставкой, имплантированной между ВВ трансплантата и конfluenceм верхней брыжеечной и селезеночной вен реципиента (тип IV – 29%).

Подводя итоги, авторы заключают, что наиболее эффективной и безопасной методикой нивелирования разницы диаметров воротных вен является использование конfluenceм верхней брыжеечной и селезеночной вен реципиента с использованием или без использования венозной вставки (типы III и IV). Худшие результаты, на основе анализа с помощью доплерофлоуметрии скорости кровотока по ВВ трансплантата, получены при II типе. Также авторы констатируют наибольшую частоту стенозов порто-портальных анастомозов при подобной технике [16].

I.K. Marwan и соавторы, выполнив 314 РТП, разделили все портальные реконструкции на 2 груп-

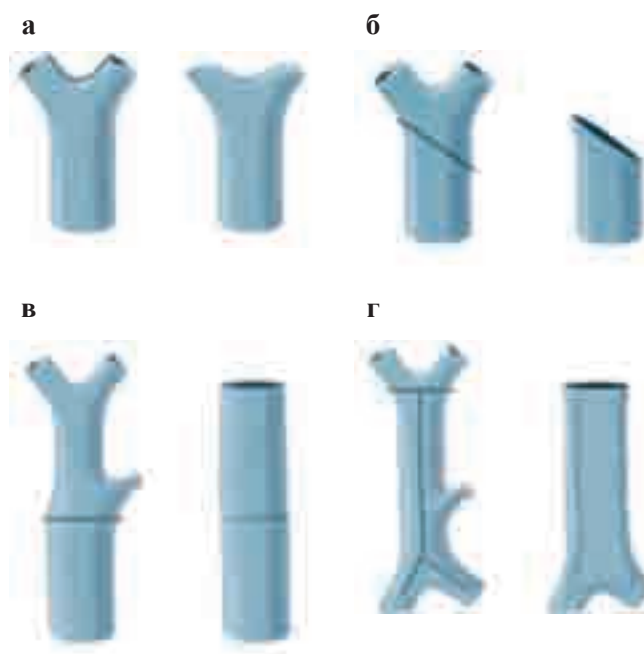


Рис. 4. Техники наложения порто-портального анастомоза

пы – с использованием и без использования венозных вставок. В качестве последних использовались левая гонадная или нижняя брыжеечная вены родственного донора. Методики не отличались от описанных предыдущими авторами. Лучшие результаты получены в группе, где использовался конfluenceм селезеночной и верхней брыжеечной вен реципиента [32].

По данным литературы, подходы к решению первой задачи схожи у многих хирургических школ. Отличаются лишь показания к использованию той или иной методики. P. Clavien для наложения порто-портального анастомоза в арсенале имеет 4 следующие техники:

- 1) использование площадки из бифуркации ВВ реципиента на долевые ветви (рис. 4, а);
- 2) косой срез ВВ реципиента (допустим при достаточной длине ВВ трансплантата) (рис. 4, б);
- 3) интерпозиция венозной вставки (рис. 4, в);
- 4) использование patch graft (рис. 4, г).

Два первых варианта наиболее просты и используются для нивелирования разницы диаметров воротных вен реципиента и трансплантата. В случае если стенка ВВ реципиента повреждена или просвет ее сужен, автор рекомендует «заменять» ее венозной вставкой. Если последняя слишком мала для интерпозиции, рекомендуется продольно рассекать имеющуюся вставку для увеличения ее диаметра [22].

Если несоответствие диаметров окружностей ВВ никогда не препятствовало трансплантации, то вторая проблема – тромбоз ВВ реципиента, встречающийся, по данным P. Seu и C. Shackleton, в 3,2–13,8% трансплантаций печени [44], – долгое время в некоторых клиниках являлась противопоказа-

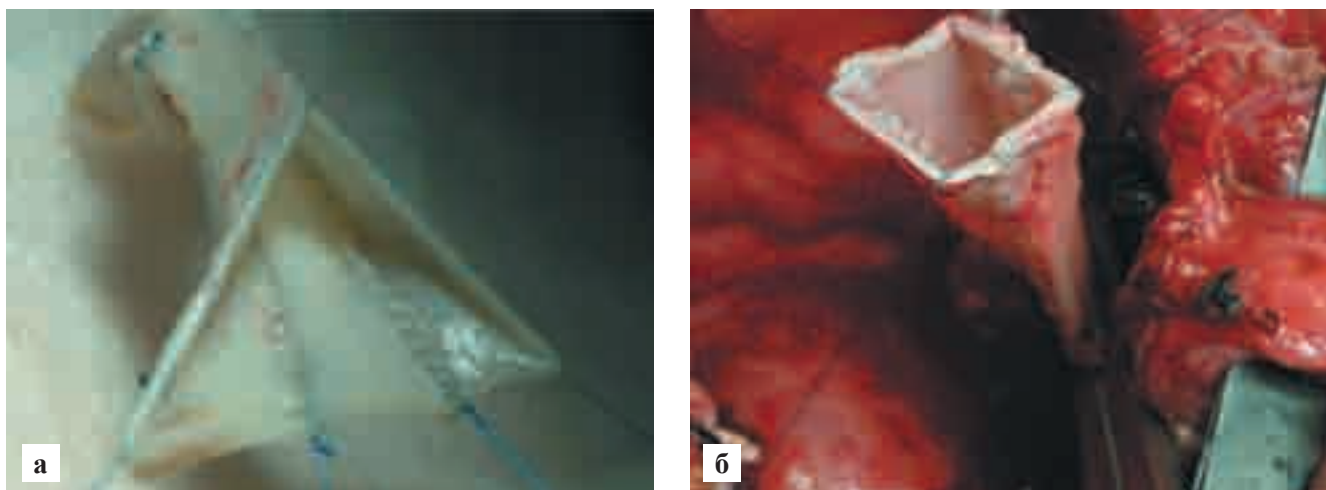


Рис. 5. Техника создания сосудистого протеза путем сшивания трех венозных лоскутов

нием к трансплантации. G. Manzanet и соавт., демонстрируя опыт 415 ТП, наглядно утверждают, что тромбоз ВВ преодолим и не является противопоказанием к ТП [30]. По мнению авторов, оперативный прием в таких случаях заключается в выполнении тромбэктомии из ВВ с помощью катетера Fogarty с оценкой проходимости верхней брыжеечной и селезеночной вен реципиента. При недостаточности этой процедуры допускается выполнение продольной портотомии до уровня сплено-портomesентериального соустья и выполнение тромбэктомии острым путем. G. Mogeno в подобных случаях рекомендует иссекать частично и полностью тромбированную ВВ реципиента с последующей пластикой венозной вставкой [13].

Отдельного внимания заслуживает тромбоз ВВ, распространяющийся на верхнюю брыжеечную и селезеночную вены реципиента, что делает невозможным перфузию трансплантата портальной кровью. Выходом из положения у таких пациентов является мультивисцеральная трансплантация, или использование для перфузии печеночного трансплантата НПВ реципиента (кава-портальная транспозиция) [55]. N. Kumar и соавторы описывают успешный случай родственной трансплантации ЛЛС печени ребенку, страдающему циррозом печени в исходе атрезии желчевыводящих путей, с тромбозом воротной, верхней брыжеечной и селезеночной вен. Авторы описывают формирование кава-портального анастомоза «конец в конец» между ВВ трансплантата и супраренальным отделом НПВ реципиента с удовлетворительным результатом [24].

Резюмируя вышесказанное на основе анализа литературы, можно констатировать, что исходный тромбоз ВВ реципиента не является противопоказанием к родственной трансплантации, а хирургическая тактика в подобной ситуации исчерпыва-

ется тромбэктомией, или протезированием венозной вставкой. В случае распространенного тромбоза портального русла возможна кава-портальная транспозиция.

Различные методики были предложены для борьбы с еще одним вызовом хирургам – гипоплазией ВВ. В зарубежной литературе описывается протезирование гипоплазированной ВВ (диаметр <5 мм) внутренней подвздошной аутовеной реципиента на примере 14 успешных наблюдений [37]. В мировой практике методология борьбы с гипоплазией ВВ сводится к ее протезированию. Различается лишь природа протезов. Как было сказано выше, возможно использование левой гонадной или нижней брыжеечной вен донора. Также могут быть использованы замороженные крио-трансплантаты [50]. Однако сообщается об их частых окклюзиях в практике РТП [23, 36] или эндогенных повреждениях, ввиду высокой объемной скорости кровотока по ВВ в условиях наличия портальной гипертензии и изменения характеристик портального кровотока в послеоперационном периоде [18].

Представители китайской трансплантологической школы на примере родственной трансплантации правой доли печени описывают оригинальную методику создания сосудистого протеза путем продольного сшивания трех лоскутов, полученных из большой подкожной вены реципиента (рис. 5) [8].

Преимуществом данной методики является возможность создания подходящего диаметра, а также длины протеза путем уменьшения ширины сосудистых полосок. По мнению авторов, наличие дополнительных сосудистых швов не представляет дополнительного риска тромбообразования из-за их продольной направленности.

Методика использована только при родственной трансплантации правой доли печени, хотя описывается ее универсальность и возможность примене-

ния при других видах трансплантаций, в том числе в педиатрической практике.

Схожие приемы используются и при выполнении порто-портального анастомоза при трансплантации фрагмента печени детям, страдающим кавернозной трансформацией воротной вены. Основная проблема заключается в преодолении нехватки длины анастомозируемых венозных стволов, что диктует необходимость использования венозных вставок или протезов.

## АРТЕРИАЛЬНАЯ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ

Артериальный анастомоз традиционно считается наиболее трудоемким, технически сложным и требует максимальной тщательности выполнения и использования соответствующего шовного материала, особенно если речь идет о трансплантации в педиатрической практике [45].

Правильный выбор *варианта артериальной реконструкции* (1) с учетом анатомических особенностей и *количества подлежащих реваскуляризации ветвей* (2), а также *преодоление разницы диаметров* (3) и *мелкого калибра анастомозируемых артериальных стволов* (4) являются решающими факторами в достижении успеха операции [4].

Фактором, который, с точки зрения Т. Soliman, может стать причиной тромбоза артериального анастомоза, является «комплексная артериальная реконструкция», то есть наличие дополнительных артериальных ветвей трансплантата, требующих реваскуляризации [49]. Наиболее распространенным анатомическим вариантом, встречающимся при трансплантации ЛЛС, является наличие дополнительной артериальной ветви из бассейна левой желудочной артерии (ЛЖА). В подобных ситуациях, когда необходимо восстанавливать афферентный артериальный кровоток и по левой доле печеночной артерии, и по ветви от ЛЖА, большинство авторов стараются создать на препаровочном столике 1 устье, объединив 2 ветви трансплантата воедино, и анастомозировать его с печеночной артерией (ПА) реципиента [15, 17, 23, 46]. Так, М. Haberal приводит опыт 25 случаев наличия двух артерий трансплантата, из которых только 8 пациентам были наложены отдельные артериальные анастомозы с каждым артериальным стволом. В остальных же 17 случаях медиальные стенки 2 артерий сшивались между собой для получения одной окружности и наложения одного артериального анастомоза [14].

В случае если создание единой окружности из двух артериальных ветвей трансплантата не представляется возможным, а ветви собственной печеночной артерии реципиента позволяют реваскуляризовать только одну артерию трансплантата, ав-

стрийские хирурги предлагают использовать вставку из верхней брыжеечной вены реципиента между дополнительной артерией трансплантата и гастродуоденальной артерией реципиента [31]. Существует мнение о возможности анастомозирования дополнительной артерии трансплантата с брюшной аортой путем создания кондуита (над чревным стволом, или ниже устьев почечных артерий) [34].

Однако остается открытым вопрос, необходимо ли идти по пути усложнения сосудистой реконструкции и восстанавливать кровоток по каждой из имеющихся артерий трансплантата. Т. Ikegami и соавт. придерживаются мнения, что далеко не каждая артериальная ветвь трансплантата требует реваскуляризации [16].

Основываясь на многолетнем опыте педиатрической ТП, авторы предлагают перед принятием решения о наложении анастомоза со второй артериальной ветвью определить ее гемодинамическую значимость. Если после реваскуляризации левой доленой артерии по дополнительной ветви появляется ретроградный кровоток, то последнюю можно не реваскуляризовать и тем самым не усложнять сосудистую реконструкцию.

Другой немаловажной проблемой является выбор подходящей для анастомозирования артерии реципиента. Классическим методом артериальной реконструкции при трансплантации ЛЛС печени детям является создание анастомоза «конец в конец» между левой доленой печеночной артерией донора и левой или правой доленой печеночной артерией реципиента. Большинство хирургов-трансплантологов такой анастомоз накладывается с использованием оптического увеличения, вплоть до использования микрохирургической техники [56]. Существует множество хирургических тактик, используемых, если ПА реципиента признается неподходящей для реконструкции [53]. В литературе описаны случаи использования для артериальной реваскуляризации селезеночной артерии [7, 19]. Но такая тактика включает в себя перевязку дистальной части селезеночной артерии, в результате чего может развиваться инфаркт селезенки [25]. У. Таппигі, ссылаясь на успешный клинический опыт, предложил использовать для реваскуляризации трансплантата правую желудочносальниковую артерию (рис. 6), полагая, что ее выделение достаточно технически просто и не компрометирует кровоснабжение желудка. Автор рекомендует использовать для реваскуляризации трансплантата ЛЛС правую желудочносальниковую артерию в каждом случае, когда классическая артериальная реконструкция невыполнима [53].

Общепринятой альтернативой анастомозу «конец в конец» является использование так называемого артериального трансплантата, то есть удлинение сосу-

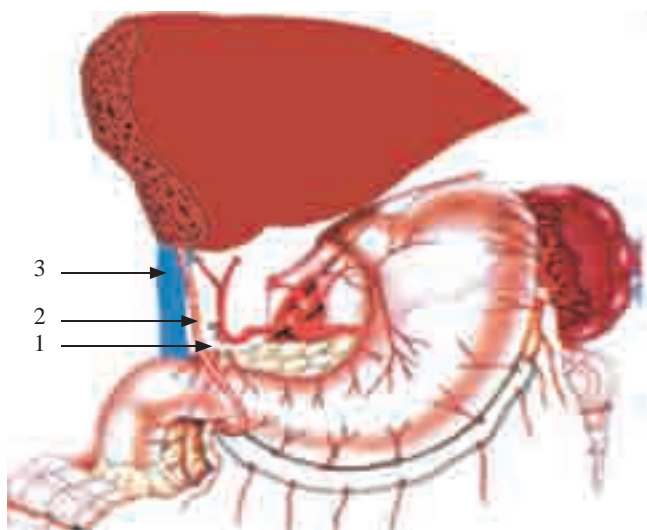


Рис. 6. Реваскуляризация трансплантата правой желудочносальниковой артерией: 1 – лигированная *a. gastroduodenalis*; 2 – *a. gastroepiploica*, анастомозированная с левой долевой печеночной артерией трансплантата; 3 – анастомоз воротной вены

да донорской печени с помощью донорского аортального кондуита с широким аорто-аорто-анастомозом «конец в бок». Такая методика актуальна только в случае использования трупного трансплантата в детской трансплантации, а также при отсутствии подходящих по диаметру ПА донора и реципиента [5, 7, 11, 48, 54, 58]. Так, американские хирурги во главе с К. Мекеел при диаметре общей печеночной артерии реципиента < 2 мм создают конduit между артерией трансплантата и аортой реципиента [34]. Группа ученых во главе с Р. Муисан считает показаниями к созданию кондуита между артерией трансплантата и инфраренальным отделом абдоминальной аорты малый (< 3 мм) диаметр собственной печеночной артерии реципиента (особенно у детей младше 2 лет), наличие дополнительных артерий трансплантата, вариантной анатомии артериального дерева реципиента и ретрансплантацию. Авторы предлагают использовать в качестве кондуита большую подкожную вену родственного донора и анастомозировать ее с инфраренальным отделом аорты [38]. Анастомоз с супрацелиакальным отделом аорты допустим, и имеются положительные результаты, но такой вариант допустим при наличии короткого кондуита [42, 45].

Для нивелирования значительной разницы диаметров анастомозируемых артерий Р. Clavien предлагает следующие хирургические техники [41]:

- 1) косой срез окружности артерии реципиента (рис. 7, а);
- 2) объединение бифуркации собственной печеночной артерии реципиента в единую окружность (рис. 7, б);
- 3) рассечение передней стенки артерии реципиента (рис. 7, в);

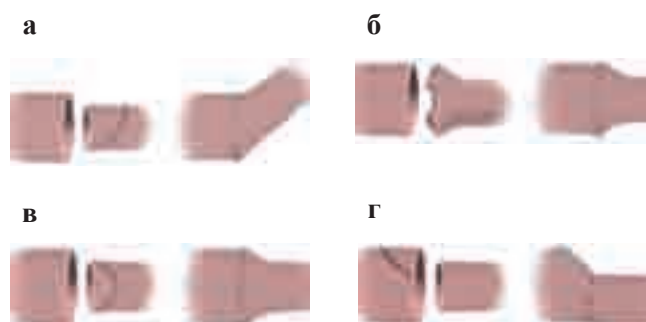


Рис. 7. Техники преодоления разницы диаметров анастомозируемых артериальных стволов

- 4) уменьшение диаметра артерии трансплантата (рис. 7, г).

Поскольку в связи с малыми диаметрами сшиваемых сосудов наиболее частыми осложнениями этих операций являются артериальные и венозные тромбозы (7–10%) [6, 12], выполнение вышеуказанных этапов предполагает прецизионность и оптическое увеличение вплоть до использования микрохирургической техники [33, 39]. Однако большинство авторов склонны использовать оптическое увеличение при анастомозировании именно артерий трансплантата.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проанализировав опыт реваскуляризации трансплантата левого латерального сектора печени в педиатрической практике, можно заключить, что, несмотря на обилие практикуемых в мире методик сосудистой реконструкции, вопрос о выборе технического подхода к реваскуляризации остается строго индивидуальным, исходя из конкретных анатомических предпосылок. Это обусловлено большой вариабельностью сочетаний анатомических вариантов строения венозного оттока, портального и артериального кровоснабжений печени донора и особенностями развития НПВ и ВВ ребенка. Эти обстоятельства открывают возможности и обуславливают необходимость дальнейших исследований в этой области.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шумаков В.И., Гальперин Э.И., Неклюдова Е.А. Трансплантация печени. 1981. С. 205–207.
2. Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени. 2008. С. 132–133.
3. Blumhardt G., Ringe B., Lauchart W. et al. Vascular problems in liver transplantation // *Transpl. Proc.* 1987. Vol. 69. № 1. P. 2412.
4. Brems J.J., Millis J.M., Hiatt J.R. et al. Hepatic artery reconstruction during liver transplantation // *Transplantation.* 1989. Vol. 47. № 9. P. 403–406.

5. *Broelsch C.E., Emond J.C., Thistlethwaite J. et al.* Liver transplantation reduced size donor organs // *Transplantation*. 1988. Vol. 45. № 3. P. 519–523.
6. *Broelsch C.E., Emond J.C., Whittington P.F. et al.* Application of reduced-size liver transplants as split grafts, auxiliary orthotopic grafts and living related segmental transplants // *Ann. Surg.* 1990. Vol. 212. № 3. P. 368–377.
7. *Broelsch C.E., Whittington P.F., Emond J.C. et al.* Liver transplantation in children from living related donors // *Ann. Surg.* 1991. Vol. 214. № 4. P. 428–438.
8. *Chen C., Concejero A.M., Wang C. et al.* Remodeled Saphenous Vein as Interposition Graft for Portal Vein Reconstruction in Living Donor Liver Transplantation // *Liver Transplantation*. 2007. Vol. 13. P. 1472–1475.
9. *Cherqui D., Riff Y., Rotman N. et al.* The recipient splenic artery for arterialization in orthotopic liver transplantation // *Am. J. Surg.* 1994. Vol. 167. P. 327–330.
10. *Davidson R., Gibson M., Dick R. et al.* Incidence, risk factors, management and outcome of portal vein abnormalities at orthotopic liver transplantation // *Transplantation*. 1994. Vol. 57. № 8. P. 1174–1177.
11. *Emond J.C., Heffron T.* Short term results of living related liver transplantation // *Jap. J. Ped. Surg.* 1993. Vol. 29. № 1. P. 53–57.
12. *Emond J.C.* Clinical application of living-related liver transplantation. *Gastroent // Clinics of North America*. 1993. Vol. 22. № 2. P. 301–314.
13. *Figueras J., Torras J., Rafecas A. et al.* Extra-anatomic venous graft for portal vein thrombosis in liver transplantation // *Transpl. Int.* 1997. Vol. 10. P. 407–408.
14. *Haberal M.* Outcome of pediatric liver transplant in grafts with multiple arteries // *Pediatr Transplant - 01-JUN-2008*. 12 (4). P. 407–411.
15. *Hiatt J.R., Gabbay J., Busuttil R.W.* Surgical anatomy of the hepatic artery in 1000 cases // *Ann. Surg.* 1994. Vol. 220. P. 50–52.
16. *Ikegami T., Kawasaki S., Matsunami H. et al.* Should all hepatic arterial branches be reconstructed in living-related liver transplantation? // *Surgery*. 1996. Vol. 119. P. 431–436.
17. *Inomoto T., Nishizawa F., Sasaki H. et al.* Experiences of 120 microsurgical reconstructions of hepatic artery in living related liver transplantation // *Surgery*. 1996. Vol. 119. P. 20–26.
18. *Ito T., Kiuchi T., Yamamoto H. et al.* Changes in portal venous pressure in the early phase after living donor liver transplantation: pathogenesis and clinical implications // *Transplantation*. 2003. Vol. 75. P. 1313–1317.
19. *Katz E., Fukusawa K., Schwartz M., Mor E., Miller C.* The splenic artery as the inflow in arterial revascularization of the liver graft in clinical liver transplantation // *Transplantation*. 1992. Vol. 53. P. 1373–1374.
20. *Kilic M., Aydinli B., Aydin U., Alper M., Zeytinlu M.* A new surgical technique for hepatic vein reconstruction in pediatric live donor liver transplantation // *Pediatr. Transplant*. 2008 Sep. 12 (6). P. 677–681.
21. *Koichi Tanaka, Hiroto Egawa.* Living Donor Transplantation: Left Hemiliver Donor Procedure and Implantation. Open Donor Procedure for Left Living Donor Liver Grafts. *Atlas of Upper Gastrointestinal and Hepato-Pancreato-Biliary Surgery*. 2007. P. 507–508.
22. *Koichi Tanaka, Hiroto Egawa.* Living Donor Transplantation: Left Hemiliver Donor Procedure and Implantation. Open Donor Procedure for Left Living Donor Liver Grafts. *Atlas of Upper Gastrointestinal and Hepato-Pancreato-Biliary Surgery*. 2007. P. 509.
23. *Kuang A.A., Renz J.F., Ferrell L.D. et al.* Failure patterns of cryopreserved vein grafts in liver transplantation // *Transplantation*. 1996. Vol. 62. P. 742–747.
24. *Kumar N., Atkison P., Fortier M.V. et al.* Cavoportal Transposition for Portal Vein Thrombosis in a Pediatric Living-Related Liver Transplantation // *Liver Transpl.* 2003. Vol. 9. P. 874–876.
25. *Lehar S.C., Zajko A.B., Koneru B. et al.* Splenic infarction complicating pediatric liver transplantation: incidence and CT appearance // *J. Comput. Assist. Tomogr.* 1990. Vol. 14. P. 362–365.
26. *Lerut J., Tzakis A.J., Bron K. et al.* Complications of venous reconstruction in human orthotopic liver transplantation // *Ann. Surg.* 1987. Vol. 205. № 4. P. 404–414.
27. *Maddrey W.C., Elsevier E.* Transplantation of the liver. New York. 1988. P. 342.
28. *Makowka L., Stieber A.C., Sher L. et al.* Surgical technique of orthotopic liver transplantation // *Gastroenterology Clinics of North America*. 1988. Vol. 17. № 1. P. 33–52.
29. *Malago M., Ernesto P., Molmenti D. et al.* Hepatic venous outflow reconstruction in right live donor liver transplantation // *Liver Transplantation* Feb 2005. Vol. 11. № 3. P. 364–365.
30. *Manzanet G., Sanjua'n F., Orbis P. et al.* Liver Transplantation in Patients With Portal Vein Thrombosis // *Liver Transplantation*. 2001. Vol. 7. P. 125–131.
31. *Margreiter C., Aigner F., Orozco H. et al.* Hepatic artery reconstruction with inferior mesenteric vein graft in pediatric living donor liver transplantation // *Pediatr. Transplant*. 2008 May. 12 (3). P. 324–328.
32. *Marwan I.K., Fawzy A.T., Egawa H. et al.* Innovative techniques for and results of portal vein reconstruction in living-related liver transplantation // *Surgery*. 1999 Mar. 125 (3). P. 265–270.
33. *Matsunami H., Makuuchi M., Kawasaki S. et al.* Living-related liver transplantation despite major arterial and venous abnormalities // *Transplantation*. 1993. Vol. 56. № 3. P. 753–755.
34. *Mekeel K.L., Langham M.R., Gonzalez-Peralta R.P. et al.* Liver transplantation in very small infants // *Pediatr. Transplant*. 2007. Vol. 11. P. 66–72.
35. *Merion R.M., Burtch G.D., Ham J.M. et al.* The hepatic artery in liver transplantation // *Transplantation*. 1989. Vol. 48. P. 438–443.
36. *Millis J.M., Cronin D.C., Brady L.M. et al.* Primary living-donor liver transplantation at the University of Chicago: technical aspects of the first 104 recipients // *Ann. Surg.* 2000. Vol. 232. P. 104–111.
37. *Mitchell A., John P.R., Mayer D.A. et al.* Improved technique of portal vein reconstruction in pediatric liver transplant recipients with portal vein hypoplasia // *Transplantation*. 2002. Vol. 73 (8). P. 1244–1247.

38. *Muiesan P., Rela M., Nodari F. et al.* Use of Infrarenal Conduits for Arterial Revascularization in Orthotopic Liver Transplantation // *Liver Transplantation and Surgery*. Vol. 4. № 3. 1998. P. 232–235.
39. *Neuberger J.* Liver transplantation: indications and timing // *Curr. Opin. Gastroenterol.* 1987. Vol. 3. P. 402–407.
40. *Ortale J.R., Bonet C. et al.* Anatomy of the intrahepatic ramification of the intermediate and left hepatic veins in humans // *Braz. J. Morphol. Sci.* 2003. Vol. 20. № 1. P. 47–54.
41. *Clavien P.A., Sarr M.G., Fong Y.* Atlas of Upper Gastrointestinal and Hepato-Pancreato-Biliary Surgery. 2007. P. 51.
42. *Roy A., McAlister V., Grant D.R. et al.* Technique to minimize the incidence of hepatic artery thrombosis in pediatric liver transplantation in French // *Ann. Chir.* 1993. Vol. 4. P. 816–820.
43. *Saad S., Tanaka K., Inomata Y. et al.* Portal vein reconstruction in pediatric liver transplantation from living donors // *Ann. Surg.* 1998 Feb. 227 (2). P. 275–281.
44. *Seu P., Shackleton C.R., Shaked A. et al.* Improved results of liver transplantation in patients with portal vein thrombosis // *Arch. Surg.* 1996. P. 131.
45. *Shaked A.A., Takiff H., Bussutil R.W.* The use of the supraceliac aorta for hepatic arterial revascularization in transplantation of the liver // *Surg Gynecol Obstet.* 1991. Vol. 173. P. 198–202.
46. *Shaw B.W., Wood R.P., Stratta R.J. et al.* Management of arterial anomalies encountered in split-liver transplantation // *Transplant. Proc.* 1990. 2. P. 420–422.
47. *Shaw B.W., Iwatsuki S., Starzl T.E.* Alternative methods of arterialisation of the hepatic grafts // *Surg., Gynecol., Obstet.* 1984. Vol. 159. P. 490–493.
48. *Shaw B.W., Wood R.P., Stratta R.J. et al.* Transplantation of the liver // *Surgical Treatment of Digestive Disease*; ed. by F.J. Moody. Yearbook Medical Publishers, Chicago, 2nd edition, 1989. P. 423–454.
49. *Soliman T., Bodingbauer M., Langer F. et al.* The role of complex hepatic artery reconstruction in orthotopic liver transplantation // *Liver Transplantation*. 2003. Vol 9. № 9 (September). P. 970–975.
50. *Sugawara Y., Makuuchi M., Tamura S. et al.* Portal vein reconstruction in adult living donor liver transplantation using cryopreserved vein grafts // *Liver Transpl.* 2006. Vol. 12. P. 1233–1236.
51. *Starzl T.E., Demetris A.J.* Liver Transplantation: A 31-Year Retrospective. Part I. Current Problems in Surgery, 1990. Vol. 27. № 2. P. 51–116.
52. *Tannuri U., Mello E.S., Carnevale F.C. et al.* Hepatic venous reconstruction in pediatric living-related donor liver transplantation – experience of a single center // *Pediatr Transplantation*. 2005. P. 293–298.
53. *Tannuri U., Maksoud-Filho J.G., Silva M.M. et al.* An alternative method of arterial reconstruction in pediatric living donor liver transplantation with the recipient right gastroepiploic artery // *Pediatr Transplantation*. 2006. Vol. 10. P. 101–104.
54. *Todo S., Makowka L., Tzakis A.G. et al.* Hepatic artery in liver transplantation // *Transpl. Proc.* 1987. Vol. 19. № 1. P. 2406–2411.
55. *Tzakis A.G., Kirkegaard P., Pinna A.D. et al.* Liver transplantation with cavoportal hemitransposition in the presence of diffuse portal vein thrombosis // *Transplantation*. 1998. Vol. 65. P. 619–624.
56. *Wei W.I., Lam L.K., Ng R.W. et al.* Microvascular reconstruction of the hepatic artery in live donor liver transplantation: experience across a decade // *Arch. Surg.* 2004. Vol. 139. P. 304–307.
57. *Williams J.W.* Hepatic transplantation. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1990. P. 245.
58. *Wood R.P.* Complex vascular reconstruction in liver transplantation // *Surg. Clin. North. Am.* 1990. Vol. 70. P. 449–452.



## СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА МОРФОЛОГИЮ ОСТРОГО ОТТОРЖЕНИЯ АЛЛОТРАНСПЛАНТИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ

Шкалова Л.В.<sup>1</sup>, Ильинский И.М.<sup>2</sup>, Цирульникова О.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГУ «ПОМЦ ФМБА России», г. Нижний Новгород

<sup>2</sup> ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, г. Москва

В статье представлен анализ данных литературы последних 20 лет о морфологических признаках и критериях тяжести острого отторжения аллотрансплантированной печени. Дано современное представление об иммунных механизмах развития реакции острого отторжения в аллотрансплантированной печени. Рассмотрена роль различных типов клеток в деструктивном иммунном ответе при остром отторжении аллотрансплантата печени. Обсуждаются сильные и слабые стороны Banff-классификации 1995, 1997 гг., необходимость градации острого отторжения на раннее и позднее. Приводятся клинко-морфологические корреляции при остром отторжении аллотрансплантированной печени.

*Ключевые слова:* трансплантация печени, иммунитет, острое отторжение, морфология.

## CURRENT VIEW ON MORPHOLOGY OF ACUTE REJECTION IN LIVER TRANSPLANTATION

Shkalova L.V.<sup>1</sup>, Iljinsky I.M.<sup>2</sup>, Tsiurulnikova O.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Institution Volga Regional Medical Center of Federal Bio-Medical Agency, Nizhny Novgorod

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

We present a scientific literature data analysis of morphological features and severity criteria of the liver allograft acute rejection during last 20 years. Modern conception was given about the role of immunological mechanisms in the development of liver graft acute rejection. We describe roles of different cell types in the destructive immune response during liver allograft acute rejection. Advantages and disadvantages of Banff-classifications 1995, 1997 are discussed as well as the necessity of grading the acute rejection as early and late. We propose clinico-morphological correlations in liver allograft acute rejection.

*Key words:* liver allograft, immunity, acute rejection, morphology.

Ортопическая трансплантация печени (ОТП) за последние 10 лет стала одной из самых передовых медицинских технологий, позволяющих продлить жизнь больных хронической печеночной недостаточностью, улучшить качество их жизни, обеспечить социальную реабилитацию [6, 13]. На сегодняшний день более чем у 80% пациентов после трансплантации печени продолжительность жизни составляет свыше пяти лет, и многие из них социально реабилитированы [14]. Однако до настоящего времени остается актуальной проблема после-

операционных осложнений [7, 22, 43, 69, 73, 76, 98]. Принято считать, что большинство осложнений наблюдается в ранние и ближайшие сроки после ОТП [16], практически у каждого реципиента донорской печени в послеоперационном периоде возникает как минимум одно осложнение [1, 3, 8, 12, 23].

Послеоперационные осложнения в аллотрансплантированной печени можно разделить на четыре группы: обусловленные состоянием пациента перед трансплантацией [4, 18, 39], качеством донорской печени [17, 20], хирургическими осложнени-

Статья поступила в редакцию 21.10.11 г.

**Контакты:** Ильинский Игорь Михайлович, д. м. н., профессор, руководитель отделения клинической патологии ФНЦТИО.  
Тел. 8 926 811 84 55, e-mail: iljinsky@mail.ru

ями [9, 10, 34, 70] и осложнениями иммуносупрессивной терапии [16, 19].

Среди всех осложнений острое отторжение по-прежнему занимает одну из ведущих позиций [90] и наблюдается у 20–40% пациентов [44, 90, 93]. Острое отторжение аллотрансплантата печени, так же как и других аллотрансплантированных органов, является ответом иммунной системы реципиента на чужеродные антигены и представляет собой реакцию гиперчувствительности замедленного типа [54]. Поэтому это осложнение развивается чаще всего на 7–14-е сутки [12]. Более поздние проявления острого клеточного отторжения в основном связаны с недостаточным уровнем базовой иммуносупрессии при лечении сопутствующих инфекций [5].

### **Иммунные механизмы острого отторжения аллотрансплантированной печени**

Уже во время операции ОТП создаются условия для сочетанной активации систем адаптивного и врожденного иммунитета, осуществляющих иммунный гомеостаз [59]. Роль системы врожденного (неспецифического) иммунитета при ОТП заключается в активации системы адаптивного иммунитета посредством продукции высокого уровня провоспалительных цитокинов и мигрирующих воспалительных клеток в ответ на обширную хирургическую травму тканей реципиента и ишемию донорской печени во время трансплантации [25, 67, 85]. Возникает реакция развернутого неспецифического воспаления, которая даже при отсутствии выраженных различий в системе HLA донора и реципиента провоцирует развитие острого отторжения [42, 65]. В посттрансплантационном периоде воспалительные процессы, особенно вирусные, через активацию системы врожденного иммунитета также могут способствовать развитию острого отторжения [78].

Основной фигурой адаптивного (специфического) иммунитета является антиген, презентруемый на молекулах системы HLA, расположенных на внешней мембране всех ядросодержащих клеток организма. В систему адаптивного иммунитета входят Т- и В-лимфоциты, специализированные антиген-презентирующие клетки (АПК) [56].

С донорской печенью в организм реципиента попадают донорские АПК, активируя адаптивную систему иммунитета и запуская процесс острого отторжения за счет активации прямого пути представления донорских HLA антигенов (прямой метаболический путь) [89]. Суть прямого метаболического пути заключается в том, что донорские лейкоциты и дендритные клетки из трансплантата мигриру-

ют в лимфоидные органы реципиента, где происходит их быстрое созревание и приобретение функции донорспецифичных АПК. Донорспецифичные АПК напрямую стимулируют большую субпопуляцию нативных Т-клеток реципиента (до 10%) с образованием CD4 Т-лимфоцитов (хелперов) 1-го и 2-го типов, которые активируют CD8 Т-лимфоциты (киллеры) и В-лимфоциты, ответственные за точную и гуморальную составляющие процесса отторжения органа [2]. Действие прямого метаболического пути ослабляется при максимальном совпадении структур молекул HLA у донора и реципиента [81, 92].

Существует три типа эффекторного пути острого отторжения аллотрансплантированной печени: Т-клеточно опосредованная цитотоксичность, отсроченный тип гиперчувствительности и антителоопосредованное повреждение.

После трансплантации в гепатоцитах возрастает экспрессия антигенов HLA 1-го класса, что ведет к активации прежде всего CD8 цитотоксических Т-лимфоцитов, взаимодействующих с трансплантатом напрямую, вызывая повреждение ткани печени и запуская первый тип эффекторного пути – Т-клеточно опосредованную цитотоксичность [99].

Отсроченный тип гиперчувствительности инициируется CD4 Т-лимфоцитами (хелперами), которые активированы антигенами HLA 2-го класса. При повторной активации специфическим аллоантигеном CD4 Т-лимфоциты (хелперы) начинают продуцировать гамма-интерферон и провоспалительные цитокины, вызывая активацию макрофагов с последующей выработкой ими различных растворимых медиаторов. Эти воспалительные медиаторы инициируют клеточный антитрансплантационный ответ или прямое тканевое повреждение [75].

Антителоопосредованное повреждение аллотрансплантата печени связано с образованием специфических антител к антигенам трансплантата. Специфические антитела вызывают повреждение трансплантата через активацию комплемента, или связываясь с Fc рецепторами эффекторных клеток [75].

Широко распространено мнение о печени как об иммунологически толерантном органе, где механизмы отторжения почти всегда основаны на Т-клеточном иммунном ответе [77]. До недавнего времени считалось, что случаи чисто гуморального отторжения в аллотрансплантатах печени чрезвычайно редки, чаще имеют фульминантный характер, сообщения о них были эпизодичны [79].

В недавних исследованиях T. Sawada et al. [88] показали, что гуморальный иммунитет частично все же отвечает за повреждение аллотрансплантата печени при остром отторжении, а D.A.H. Neil and S.G. Hübscher [82] обнаружили маркер антитело-

опосредованного повреждения при остром отторжении печени – С4d-депозиты. M. Schemedlmg et al. [90] при остром отторжении аллотрансплантата печени продемонстрировали 90% специфичность С4d при чувствительности 67,7%.

Данные публикации поднимают вопрос об анти-тело-опосредованном отторжении как возможной причине раннего и позднего повреждения трансплантата печени. Однако современные знания по этому вопросу нуждаются в дальнейшей разработке, так как истинная частота антитело-опосредованного отторжения неизвестна, иммуногистохимическое окрашивание на С4d в диагностике ограничено недостаточными исследованиями донор-специфичных антител, поэтому непонятно функциональное значение этих наблюдений.

### **Современные представления о роли клеток в деструктивном иммунном ответе при остром отторжении аллотрансплантированной печени**

Несмотря на имеющиеся в литературе сообщения и накопленный мировой опыт в области трансплантологической иммунологии, очень сложно выделить вклад специфических эффекторных путей, их взаимодействия при остром отторжении печени и определить, насколько активно каждый тип клеток вовлекается в деструктивный иммунный ответ [75].

На сегодняшний день известно, что АПК в печени обладают врожденной способностью активировать и индуцировать толерантные ответы в Т-клетках [61]. Дендритические клетки (ДК) являются профессиональными АПК. Они присутствуют практически во всех органах и обеспечивают связь между врожденной и адаптивной иммунными системами. По данным литературы, ДК из печени могут подавлять иммунный ответ, включая и обеспечивая периферическую Т-клеточную толерантность [66].

НК-клетки составляют до 45% популяции лимфоцитов в печени [41, 100], имеют множественные рецепторы, которые могут распознавать различные антигены или сигналы опасности, что опосредует МНС-независимый цитолиз [37, 64]. Недавние исследования продемонстрировали, что огромное количество НК-клеток реципиента инфильтрируют аллотрансплантат печени в ранний посттрансплантационный период и экспрессируют высокие уровни Fas-лиганда, перфорина и гранзима В [51]. После клонирования нового рецептора активации НК-клеток rNKp30 было высказано предположение о том, что НК-клетки в печени могут обладать цитотоксичностью [52]. L.B. Lilly et al. [68] считают, что НК-клетки поставляют сигналы смерти к циркули-

рующим Т-клеткам реципиента, мигрирующим после трансплантации печени, что вносит вклад в развитие толерантности.

Клетки Купфера обладают уникальным иммунным фенотипом, экспрессируя маркеры, типичные для клеток миелоидного ряда (CD1, CD4, CD11c), хотя и происходят от предшественников гепатоцитов [84]. Они являются единственными, кто вступает в прямой контакт с иммунными клетками, проходящими через печень, и антигенная презентация с их помощью является первичным механизмом системной толерантности [96].

Макрофаги важны в иммунном ответе при остром отторжении аллотрансплантированной печени как антиген-презентирующие клетки [65]. Полиморфноядерные лейкоциты, обнаруживаемые при остром отторжении в аллотрансплантированной печени, отражают влияние локальной продукции цитокинов [65]. По мнению David F. LaRosa et al. [65], чем меньше в воспалительном инфильтрате портальных трактов нейтрофилов, тем лучше прогноз трансплантата. Эозинофилы являются специфическим признаком острого отторжения в аллотрансплантированной печени, и их наличие в портальных трактах свидетельствует об активности процесса [26, 29]. A. Nagral et al. [80] в своих исследованиях продемонстрировали стероидную резистентность и худший прогноз у пациентов с повышенным уровнем эозинофилов. Некоторые исследователи выделяют обособленно альтернативный путь повреждения аллотрансплантата печени, опосредованный через интерлейкин 5 (ИЛ 5) активированными эозинофилами, так как известно, что ИЛ 5 является фактором роста для предшественников эозинофилов в костном мозге [74].

### **Международная система градации острого отторжения аллотрансплантата печени**

Долгое время для градации острого отторжения аллотрансплантированной печени не существовало общей номенклатуры, гистопатологических критериев и единого метода описания. Использовались национальные классификации: Миннесотская [94], Ганноверская [57, 58], Бирмингемская [38, 47, 49, 95], Лондонская [28] и другие, которые имели и положительные [29, 33, 35, 40, 47, 55, 60, 74, 87, 91, 94] и отрицательные [30, 32, 57, 58] стороны.

В 1995 году в Банффе (Канада) по рекомендации группы признанных экспертов в патологии трансплантации печени была принята [54], а в 1997 году модифицирована [53] Международная система градации острого отторжения аллотрансплантированной печени, широко применяемая в настоящее время. В соответствии с принятой Международной

классификацией Банфф-1995 [54] острое отторжение аллотрансплантата печени определяется как «воспаление аллотрансплантата, вызванное генетической несовместимостью между донором и реципиентом с первичным повреждением междольковых желчных протоков и эндотелия сосудов, включая портальные вены и печеночные венулы, и иногда, печеночную артерию и ее ветви».

В основе патологии при остром отторжении печени лежат воспалительные и некротические процессы, характеризующиеся классической триадой признаков: портальным воспалением, воспалением желчных протоков и вен [48, 50, 53, 54]. По мнению многих авторов, наиболее тяжело острое отторжение в аллотрансплантированной печени протекает в случаях воспалительного повреждения печеночных венул и прилежащей к ним паренхимы печени, что в последующем приводит к развитию хронического отторжения [27, 31, 44, 45, 54, 71, 83]. В исследовании B.S. Höroldt et al. [46] венозное эндотелиальное воспаление даже легкой степени коррелировало с неблагоприятным исходом и повышенным риском некроза печени, но не было связано с хроническим отторжением.

В соответствии с критериями Банфф-1995 градация острого отторжения может осуществляться двумя способами: качественной оценкой с определением степени отторжения (легкая, умеренная, тяжелая) и/или полуколичественным методом с выражением в числовых баллах различных гистопатологических параметров, сумма которых определяет индекс активности отторжения (RAI).

**Качественная оценка острого отторжения** основана на степени и распространенности воспалительного процесса в портальных трактах (табл. 1).

**Полуколичественная оценка степени острого отторжения** основана на определении индекса активности острого отторжения (RAI) по сложности степени воспаления в трех структурах биоптата: портальных трактах, желчных протоках и венах (RAI = степень воспаления портальных трактов + степень воспаления желчных протоков + степень воспаления вен). Степень воспаления каждой из структур определяется в баллах от 0 до 3 (табл. 2).

Объединение качественной и полуколичественной оценки острого отторжения в аллотрансплантированной печени представлено в табл. 3.

**Современный взгляд на Банфф-классификацию.** На сегодняшний день Банфф-классификация 1995 года широко применяется в большинстве трансплантологических центров мира. Тем не менее пока не решен вопрос о наиболее достоверных морфологических признаках острого отторжения в аллотрансплантированной печени, особенно в свете дифференциальной диагностики с другими состоя-

ниями, прежде всего с возвратом или возникновением *de novo* гепатита С.

Исследования L.R. Dixon et al. [36], J. Ludwig and J. Lefkowitz [72], A. Regev [86] доказывают, что для диагноза острого отторжения наиболее значимыми являются повреждение желчных протоков (при остром отторжении балл по Banff 1,5 при  $p = 0,01$ ; при возврате гепатита С балл по Banff 0 при  $p = 0,012$ ) и венозный эндотелиит (при остром отторжении балл по Banff 1 при  $p = 0,0033$ ; при возврате гепатита С балл по Banff 0 при  $p = 0,095$ ).

В последнее время стали появляться публикации, свидетельствующие о необходимости дополнений и уточнений существующей Банфф-классификации. Ранее считалось, что Банфф-схема предсказывает потерю трансплантата от острого отторжения, выводит корреляцию между тяжестью острого отторжения и уровнем трансаминаз [31]. C. Timpler et al. в своей работе не обнаружили корреляции между тяжестью острого отторжения и клиническим исходом [97].

В исследовании B.S. Höroldt et al. ни общее количество баллов по RAI, ни отдельные компоненты RAI не коррелировали с ответом на стероиды и с выживаемостью трансплантата, что подвергает сомнению использование RAI в точном определении исхода острого отторжения [46].

Экспертная группа Банфф-1995 не рекомендует для острого отторжения трансплантата печени употреблять такие встречающиеся в литературе синонимы, как раннее отторжение, клеточное отторжение, недуктопеническое отторжение, отторжение без потери протоков, обратимое отторжение.

Несмотря на рекомендации Банфф-1995, в настоящее время многие исследователи выделяют раннее и позднее острое отторжение. В НИИ СП им. Н.В. Склифосовского с 2000-го по 2010 г. из 39 случаев диагностированного острого отторжения после 146 ортотопических трупных трансплантаций печени у 31 реципиента был поставлен диагноз раннего острого отторжения, у 8 реципиентов – позднего [15]. Desley A.H. Neil and Stefan G. Hübscher не только выделяют раннее и позднее острое отторжение, но и предлагают дифференциально-диагностические критерии этих состояний (табл. 4) [82].

Очевидно, интерес по вопросу диагностики раннего и позднего острого отторжения обусловлен различными гистологическими проявлениями этих состояний. Все больше доказательств, что при позднем остром отторжении могут появляться признаки, имитирующие *de novo* аутоиммунный гепатит и «идиопатический» посттрансплантационный хронический гепатит [82]. Встречаются публикации, описывающие центральный перивенулит как признак позднего острого отторжения [24, 62].

Таблица 1

**Качественная оценка острого отторжения аллотрансплантированной печени [54]**

Степень отторжения	Критерии
Неопределенная	Воспалительный инфильтрат в портальных трактах незначительный для постановки диагноза «острое отторжение»
I степень (легкая)	Умеренная инфильтрация не всех триад, не выходящая за пределы портальных трактов
II степень (умеренная)	Умеренная инфильтрация большинства или всех портальных трактов
III степень (тяжелая)	Воспаление как при средней степени с переходом его на перипортальную зону. От средней до тяжелой перивенулярной воспалительной инфильтрации, которая распространяется на паренхиму печени с развитием перивенулярного некроза гепатоцитов

Таблица 2

**Показатель активности острого отторжения по степени портального воспаления, воспалительного повреждения желчных протоков, степени воспаления вен [54]**

Категория	Критерии	Баллы
Портальное воспаление	Инфильтрация главным образом лимфоцитами меньшей части триад	1
	Экспансия воспаления на большинство или все триады, инфильтрат состоит из лимфоцитов, лимфобластов, нейтрофилов и эозинофилов	2
	Экспансия воспаления не только на большинство или все триады, но и на перипортальную паренхиму, в инфильтрате большое количество лимфобластов и эозинофилов	3
Воспалительное повреждение желчных протоков	Меньшая часть желчных протоков инфильтрирована мононуклеарами и только умеренные реактивные изменения эпителиоцитов с увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения	1
	Большинство или все желчные протоки инфильтрированы воспалительными клетками. Во многих протоках имеются дегенеративные изменения эпителия типа ядерного плеоморфизма, нарушения полярности и вакуолизация цитоплазмы	2
	Как выше при 2-й степени, но в большинстве или во всех желчных протоках, а также повреждение их просветов	3
Воспалительное повреждение вен	Субэндотелиальная инфильтрация лимфоцитами части портальных и/или центральных вен	1
	Субэндотелиальная инфильтрация лимфоцитами большинства или всех портальных и/или центральных вен	2
	Как выше при 2-й степени, но воспаление распространяется на перивенулярные зоны паренхимы с развитием некроза гепатоцитов	3

**Клинико-морфологические корреляции при остром отторжении аллотрансплантированной печени**

Своевременность диагностики острого отторжения зависит от выбранного режима иммуносупрессии, способа диагностики, сроков выполнения пункционной биопсии печени в посттрансплантационном периоде [12, 16, 19].

Биопсия печени, являясь инвазивной манипуляцией, сопровождается небольшим количеством осложнений. Центры трансплантации в разных странах используют различные протоколы ее проведения [63], но чаще всего пункционную биопсию печени в послеоперационном периоде выполняют не по протоколу, а при наличии клинико-лабораторных признаков дисфункции трансплантата. Вопрос о сроках выполнения биопсии аллотрансплантированной печени в посттрансплантационном периоде остается дискуссионным по сей день.

Таблица 3

**Степень острого отторжения в зависимости от балла RAI [54]**

RAI	Степень острого отторжения
0–2	Отторжение отсутствует
3	«Неопределенное»
4–5	Легкая степень
6–7	Умеренная степень
8–9	Тяжелая степень

Клинико-лабораторные признаки дисфункции печени при остром отторжении обычно проявляются как сопутствующее неселективное повышение уровня некоторых или всех стандартных показателей: общего билирубина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, лейкоцитов и эозинофилов.

В недавно опубликованной работе К.Б. Шадрина [21] предложен диагностический алгоритм мо-

Таблица 4

**Дифференциально-диагностические критерии раннего и позднего острого отторжения аллотрансплантированной печени [82]**

	Раннее острое отторжение	Позднее острое отторжение
<b>Клинические признаки</b>		
Время возникновения	В течение 1-го месяца после трансплантации печени	От 30 дней до 12 месяцев после трансплантации
Симптомы	Лихорадка, слабость, желтуха, болезненность в области трансплантата, снижение продукции желчи	Чаще бессимптомно, особенно на ранних стадиях. Постепенно могут развиваться признаки, характерные для раннего острого отторжения
Биохимические изменения	Преимущественно холестатические (повышение щелочной фосфатазы, гамма-ГТП, билирубина)	Преимущественно печеночные (повышение АЛТ, АСТ)
<b>Гистологические признаки</b>		
Воспаление портальных трактов	Смешанный воспалительный инфильтрат (лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы)	Мононуклеарный воспалительный инфильтрат (лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги)
Желчные протоки	Воспалительное повреждение от легкого до тяжелого	Воспалительное повреждение чаще легкое
Реакция мелких желчных протоков	Различная (распространенность коррелирует с тяжестью холестаза и повреждением желчных протоков)	Воспалительное повреждение чаще легкое
Центральные вены	Воспалительное повреждение от легкого до тяжелого	Воспалительное повреждение чаще легкое
Печеночные вены	Воспалительное повреждение от легкого до тяжелого	Воспалительное повреждение чаще легкое
Печеночные артерии	Артериит наблюдается только в тяжелых случаях и редко выявляется по материалу пункционных биопсий	Артериальное повреждение редко выявляется по материалу пункционных биопсий
Интерстициальный гепатит	Преимущественно легкой степени	Различной степени (может быть выраженным в случаях сочетания с «аутоиммунными признаками повреждения»)
Воспаление дольки	Различной степени тяжести центральный перивенулит, часто выявляется связь с эндотелиитом печеночных вен. Редко – очаговая и диффузная воспалительная инфильтрация	Часто наблюдается центральный перивенулит, который протекает типично, с минимальным и/или с отсутствием эндотелиита печеночных вен
Центролобулярные изменения гепатоцитов	Часто наблюдаются баллонная дистрофия и холестаз (особенно в первые несколько недель после трансплантации печени). В большинстве случаев эти изменения относятся к ишемически-реперфузионному повреждению. При наличии центрального перивенулита может наблюдаться некроз центролобулярных гепатоцитов	Редко наблюдаются баллонная дистрофия и холестаз. При наличии центрального перивенулита может наблюдаться некроз центролобулярных гепатоцитов
Фиброз	Нет	Перипортальный (в случаях с интерстициальным гепатитом) и центролобулярный (в случаях с центральным перивенулитом). Чаще бывает легким, но может со временем прогрессировать
Дифференциальный диагноз	1. Ишемически-реперфузионное повреждение (возникают центролобулярные изменения в виде баллонной дистрофии и холестаза без воспаления). 2. Билиарная обструкция или антитело-опосредованное отторжение должны исключаться в случаях с необычно выраженной реакцией желчных протоков, часто с портальным отеком	1. Возвратный вирусный гепатит (HBV, HCV). 2. Возвратный аутоиммунный гепатит 3. De novo аутоиммунный гепатит. 4. «Идиопатический» посттрансплантационный гепатит

нитинга, позволяющий в течение первых 5 суток после ОТП прогнозировать развитие осложнений, в том числе криза острого отторжения. По данным автора, для острого криза отторжения характерно: изменение АЛТ и АСТ в диапазоне 1000–1500 Ед/л в 1–4-е сутки, повышение билирубина более 100 ммоль/л с первых суток, повышение активности ЩФ более 320 Ед/л со 2-х по 5-е сутки, уменьшение величины иммунорегуляторного индекса после 3 суток до 1,5 и менее.

Патогистологический диагноз острого отторжения не обязательно означает, что отторжение клинически значимо и требует лечения. Как правило, острое отторжение легкой степени разрешается самостоятельно и не требует дополнительной иммуносупрессивной терапии [5, 12, 54].

При тяжелом остром отторжении обязательно проводится антикризовая терапия и усиление базовой иммуносупрессивной терапии с биопсийным контролем динамики и эффективности проведенного лечения [5].

Нелеченные, клинически значимые острые кризы отторжения аллотрансплантированной печени приводят к необратимым структурным и функциональным изменениям. Неполное купирование острых кризов ведет к развитию хронического отторжения аллотрансплантированной печени.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных научной литературы последних 20 лет о морфологии острого отторжения аллотрансплантированной печени показал необходимость дальнейшего изучения этой области с учетом современных знаний и накопленного мирового опыта.

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 [11]. Решение этой проблемы невозможно без понимания естественных механизмов работы иммунной системы и роли различных типов клеток в деструктивном иммунном ответе при остром отторжении аллотрансплантата печени.

С введением Banff-классификации в 1995, 1997 гг. большинство трансплантологических центров мира используют унифицированный подход к диагностике и градации острого отторжения аллотрансплантированной печени. На современном этапе накопленные знания по проблеме острого отторжения в аллотрансплантате печени подтверждают

актуальность дополнений и уточнений существующей Banff-классификации.

Необходимость совершенствования клинико-морфологических корреляций при остром отторжении аллотрансплантированной печени не вызывает сомнений и подразумевает тесное сотрудничество клиницистов и патологоанатомов [101–102].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аммосов А.А., Ахаладзе Д.Г., Хизроев Х.М. и др. Эффективность противовирусной терапии в профилактике развития цитомегаловирусной инфекции после трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Всероссийской конференции «Инфекции в трансплантологии». М.–Тверь: Триада, 2009. Т. XI. С. 72.
2. Артамонов С.Д., Онищенко Н.А., Баикина Л.В. и др. Роль систем врожденного и адаптивного иммунитета в развитии деструктивного иммунного ответа организма на аллотрансплантат // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010. Т. XII. № 3. С. 112–120.
3. Валюшева Т.П., Минов А.Ф., Щерба А.Е., Руммо О.О. Частота, структура и факторы риска бактериальных осложнений после ортотопической трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Всероссийской конференции «Инфекции в трансплантологии». М.–Тверь: Триада, 2009. Т. XI. С. 73–74.
4. Габриэлян Н.И., Цирульникова О.М., Спирина Т.С. и др. Особенности микрофлоры зева и кишечника у пациентов до трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Всероссийской конференции «Инфекции в трансплантологии». М.–Тверь: Триада, 2009. Т. XI. С. 77–78.
5. Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени: Руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 248 с.
6. Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С. Тенденции развития органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2008 гг. Сообщение I (по данным регистра Российского трансплантологического общества) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. Т. XI. № 3. С. 8–17.
7. Готье С.В., Цирульникова О.М. Ортотопическая трансплантация печени // Клиническая трансплантология; под ред. Б.А. Константинова. М.: Аир-Арт, 2004. С. 120–152.
8. Журавель С.В., Кузнецова Н.К., Чугунов А.О., Чжао А.В. Бактериальные осложнения в раннем послеоперационном периоде после трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Все-

- русской конференции «Инфекции в трансплантологии». М.–Тверь: Триада, 2009. Т. XI. С. 81.
9. Корнилов М.Н., Милосердов И.А., Мойсюк Я.Г. Дренирование желчных протоков при ортотопической трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. М.–Тверь: Триада, 2010. Т. XII. С. 139.
  10. Коротков С.В., Щерба А.Е., Руммо О.О. и др. Клиническое значение вариантной анатомии и типа артериальной реконструкции печеночной артерии при ортотопической трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. М.–Тверь: Триада, 2010. Т. XII. С. 136–137.
  11. 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 научно-практической конференции. Тверь: Триада, 2008. С. 29–32.
  12. Павлов Ч.С., Андрейцева О.И., Мусселиус С.Г. и др. Частота и факторы риска развития отторжения печени после трансплантации // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2003. Т. 13. № 1. С. 26–35.
  13. Состояние органного донорства и трансплантации в России по итогам 2009 г. // Трансплантология 2009: итоги и перспективы / Под ред. С.В. Готье. Выпуск I. М.–Тверь: Триада, 2010. С. 8–20.
  14. Хубутия М.Ш. Состояние и перспективы трансплантации органов в г. Москве // Актуальные вопросы трансплантации органов: Материалы городской науч.-практ. конференции. Тверь: Триада, 2008. С. 3–15.
  15. Хубутия М.Ш., Андрейцева О.И., Журавель С.В. и др. Результаты трансплантации печени в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2010. Т. XII. № 2. С. 14–15.
  16. Хубутия М.Ш., Чжао А.В., Шадрин К.Б. Послеоперационные осложнения у реципиентов при трансплантации печени: современные представления о патогенезе и основных направлениях профилактики и лечения // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. Т. XI. № 2. С. 60–66.
  17. Цирульникова О.М. Печень в ранние сроки после ее обширных резекций и трансплантации: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М., 2004. 37 с.
  18. Чеклецова Е.В., Дегтярева А.В., Мухина Ю.Г. и др. Влияние исходного состояния потенциального реципиента на развитие инфекционных осложнений в раннем посттрансплантационном периоде // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Всероссийской конференции «Инфекции в трансплантологии». М.–Тверь: Триада, 2009. Т. XI. С. 82–83.
  19. Чжао А.В., Джагарев К.Р., Чузунов А.О., Олисов О.Д. Билиарные осложнения после ортотопической трансплантации печени // Актуальные вопросы трансплантации органов: Материалы городской науч.-практ. конференции. Тверь: Триада, 2008. С. 70–71.
  20. Шагидулин М.Ю., Габриэлян Н.И., Спирина Т.С. и др. Предупреждение инфекционных осложнений при трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы Всероссийской конференции «Инфекции в трансплантологии». М.–Тверь: Триада, 2009. Т. XI. С. 20–21.
  21. Шадрин К.Б. Клинико-лабораторный мониторинг при трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. М.–Тверь: Триада, 2010. Т. XII. С. 152.
  22. Шумаков В.И. Трансплантология: Руководство. Тула: Медицина, 1995. С. 275–280.
  23. Ярошенко Е.Б., Мойсюк Я.Г., Абдурахманов Д.Т. Значение ортотопической трансплантации печени в улучшении прогноза у больных циррозом печени различной этиологии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Приложение. Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. М.–Тверь: Триада, 2010. Т. XII. С. 140–142.
  24. Abraham S.C., Freese D.K., Ishitani M.B. et al. Significance of central perivenulitis in pediatric liver transplantation // Am J. Surg. Patol. 2008. Vol. 32 (10). P. 1479–1488.
  25. Andrade C.F., Waddell T.K., Keshavjee S. et al. Innate immunity and organ transplantation: The potential role of toll-like receptors // Am. J. Transplant. 2005. Vol. 5. P. 969–975.
  26. Ben-Ari Z., Dhillon A.P., Moqbel R. et al. Monoclonal antibodies against eosinophils in liver allograft rejection // Liver Transpl. Surg. 1996. Vol. 2 (1). P. 46–51.
  27. Blakolmer K., Jain A., Ruppert K. et al. Chronic liver allograft rejection in a population treated primarily with tacrolimus as baseline immunosuppression: long-term follow-up and evaluation of features for histopathological staging // Transplantation. 2000. Vol. 69 (11). P. 2330–2336.
  28. Datta Gupta S., Hudson M., Burroughs A.K. et al. Grading of cellular rejection after orthotopic liver transplantation // Hepatology. 1995. Vol. 1. P. 46–57.
  29. de Groen P.C., Kephart G.M., Gleich G.J., Ludwig J. The eosinophil is an effector cell of the immune response during hepatic allograft rejection // Hepatology. 1994. Vol. 20 (3). P. 654–662.
  30. Demetris A.J., Belle S.H., Hart J. et al. Intraobserver and interobserver variation in the histopathological assessment of liver allograft rejection. The Liver Transplantation Database (LTD) Investigators [see comments] // Hepatology. 1991. Vol. 14 (5). P. 751–755.
  31. Demetris A.J., Ruppert K., Dvorchik I. et al. Real-time monitoring of acute liver allograft rejection using the Banff schema // Transplantation. 2002. Vol. 74 (9). P. 1290–1296.
  32. Demetris A.J., Seaberg E.C., Batts K.P. et al. Reliability and predictive value of the NIDDK liver transplant database nomenclature and grading system for cellu-



- lar rejection of liver allografts // *Hepatology*. 1995. Vol. 21. P. 408–416.
33. *Demetris A.J., Qian S.G., Sun H., Fung J.J.* Liver allograft rejection: an overview of morphologic findings. [Review] // *Am J. Surg. Pathol.* 1990. Vol. 1. P. 49–63.
  34. *Denys A., Chevallier P., Doenz F. et al.* Interventional radiology in the management of complications after liver transplantation // *Eur. Radiol.* 2004. Vol. 14. P. 431–439.
  35. *Desmet V.J., Gerber M., Hoofnagle J.H. et al.* Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging // *Hepatology*. 1994. Vol. 19. P. 1513–1520.
  36. *Dixon L.R., Crawford J.M.* Early histologic changes in fibrosing cholestatic hepatitis C // *Liver Transpl.* 2007. Vol. 13 (2). P. 219–226.
  37. *Doherty D.S., O'Farrelly C.* Lymphoid repertoires in healthy liver // *Liver immunology*; Gershwin M.E., Vierling J.M., Manns M.P. eds. Philadelphia: Hanley & Belfus. 2003. P. 31–46.
  38. *Doussset B., Hubscher S.G., Padbury R.T. et al.* Acute liver allograft rejection-is treatment always necessary // *Transplantation*. 1993. Vol. 55. P. 529–534.
  39. *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. Vol. 224 (4). P. 544–552.
  40. *Foster P.F., Sankary H.N., Hart M. et al.* Blood and graft eosinophilia as predictor of rejection in human liver transplantation // *Transplantation*. 1989. Vol. 47. P. 72–74.
  41. *Golden-Mason L., O'Farrelly C. Having et al.* Stem cells, haematopoiesis and lymphopoiesis in adult human liver // *Immunol. Cell. Biol.* 2002. Vol. 80. P. 45–51.
  42. *Goldstein D.R., Tesar B.M., Akira S., Lakkis F.G.* Critical role of the Toll-like receptor signal adaptor protein MyD88 in acute allograft rejection // *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 111 (10). P. 1571–1578.
  43. *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 35<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. 2000. Rotterdam (The Netherlands): C 01/10.
  44. *Gouv A.S., van den Heuvel M.C., van den Berg A.P. et al.* Significance of parenchymal changes of acute cellular rejection in predicting chronic liver graft rejection // *Transplantation*. 2002. Vol. 73 (2). P. 243–247.
  45. *Hassoun Z., Shah V., Lohse C.M. et al.* Centrilobular necrosis after orthotopic liver transplantation: association with acute cellular rejection and impact on outcome // *Liver Transpl.* 2004. Vol. 10 (4). P. 480–487.
  46. *Höroldt B.S., Burattin M., Gunson B.K. et al.* Does the Banff rejection activity index predict outcome in patients with early acute cellular rejection following liver transplantation? // *Liver Transpl.* 2006. Vol. 12 (7). P. 1144–1151.
  47. *Hubscher S.G.* Diagnosis and grading of liver allograft rejection: a European perspective // *Transplant Proc.* 1996. Vol. 28. P. 504–507.
  48. *Hubscher S.G.* Transplantation pathology // *Semin Liver Dis.* 2009. Vol. 29 (1). P. 74–90.
  49. *Hubscher S.G.* Histological findings in liver allograft rejection – new insights into the pathogenesis of hepatocellular damage in liver allografts (comment) // *Histopathol.* 1991. Vol. 18. P. 377–383.
  50. *Hubscher S.G., Portmann B.C.* Transplantation pathology // *MacSween's Pathology of the Liver*, Burt A.D., Portmann B.C., Ferrel L.D., eds. 5<sup>th</sup> edn. Edinburgh: Churchill Livingstone. 2007. P. 815–879.
  51. *Hsieh C.L., Obara H., Ogura Y. et al.* NK cells and transplantation // *Transpl. Immunol.* 2002. Vol. 9. P. 111–114.
  52. *Hsieh C.L., Ogura Y., Obara H. et al.* Identification, cloning and characterization of a novel rat natural killer receptor, rNKp30: molecule expressed in liver allografts // *Transplantation*. 2004. Vol. 77. P. 121–128.
  53. International Panel. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document // *Hepatology*. 1997. Vol. 25. P. 658–663.
  54. International Working Party. Terminology for hepatic allograft rejection // *Hepatology*. 1995. Vol. 22. P. 648–654.
  55. *Ishak K.G., Baptista A., Bianchi L. et al.* Histologic grading and staging of chronic hepatitis // *J. Hepatol.* 1995. Vol. 21. P. 696–699.
  56. *Jiang H., Chess L.* Regulatory of Immune Responses by T-Cells // *NEJM*–2006. Vol. 11 (354). P. 1166–1176.
  57. *Kemnitz J., Gubernatis G., Bunzendahl H. et al.* Criteria for the histopathologic classification of liver allograft rejection and their clinical significance // *Transplant Proc.* 1989. Vol. 21. P. 2208–2210.
  58. *Kemnitz J., Ringe B., Cohnert T.R. et al.* Bile duct injury as part of diagnostic criteria for liver allograft rejection // *Hum Pathol.* 1989. Vol. 20. P. 132–143.
  59. *Kim I.K., Bedi D.S., Denecke C., Ge X., Tullius S.G.* Impact of Innate and Adaptive Immunity on Rejection and Tolerance // *Transplantation*. 2008. Vol. 86. P. 889–894.
  60. *Knodell R.G., Ishak K.G., Black W.C. et al.* Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histologic activity in asymptomatic chronic active hepatitis // *Hepatology*. 1981. Vol. 1. P. 431–435.
  61. *Knolle P.A., Limmer A.* Role and function of liver sinusoidal endothelial cells // *Liver immunology*. Gershwin M.E., Vierling J.M., Manns M.P. eds. Philadelphia: Hanley & Belfus. 2003. P. 59–73.
  62. *Krasinskas A.M., Demetris A.J., Poterucha J.J., Abraham S.C.* The prevalence and natural history of untreated isolated central perivenulitis in adult allograft livers // *Liver Transpl.* 2008. Vol. 14 (5). P. 625–632.
  63. *Kwekkeboom J., Bruyneel B. et al.* Are donor-livers with low expression of CD80 at the time of transplantation less susceptible to acute rejection? // *J. Hepatol*; Postgraduated course and Abstracts of the 35<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. 29 april–3 may 2000. Rotterdam (The Netherlands): P/C 01/49.
  64. *Lanier L.L.* Natural killer cell receptor signaling // *Curr. Opin. Immunol.* 2003. Vol. 15. P. 308–314.

65. *LaRosa D.F., Rahman A.H., Turka L.A.* The Innate Immune System in Allograft Rejection and Tolerance // *The Journal of Immunology*. 2007. Vol. 178. P. 7503–7509.
66. *Lau A.H., Thomson A.W.* Dendritic cells and immune regulation in the liver // *Gut*. 2003. Vol. 52. P. 307–314.
67. *Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L. et al.* The dorso-ventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults // *Cell*. 1996. Vol. 86. P. 973–983.
68. *Lilly L.B., Ding J., Levy G.A.* The immunology of hepatic allograft rejection // *Transplantation of the liver*. Maddrey W.C., Schiff E.R., Sorrell M. eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2001. P. 211–228.
69. *Lo C.M.* Complications and long-term outcome of living liver donors: a survey of 1,508 cases in five Asian centers // *Transplantation*. 2003. Vol. 15 (75). P. 12–15.
70. *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. Vol. 240 (1). P. 151–158.
71. *Lovell M.O., Speeg K.V., Halff G.A. et al.* Acute hepatic allograft rejection: a comparison of patients with and without centrilobular alterations during first rejection episode // *Liver Transpl*. 2004. Vol. 10 (3). P. 369–373.
72. *Ludwig J., Lefkowitz J.* Histopathology of the liver following transplantation // *Transplantation of the liver*; Maddrey W., Schiff E., Sorrell M., eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2001. P. 229–250.
73. *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. Vol. 6 (2). P. 95–98.
74. *Martinez O.M., Ascher N.L., Ferrell L. et al.* Evidence for a nonclassical pathway of graft rejection involving interleukin 5 and eosinophils // *Transplantation*. 1993. Vol. 55 (4). P. 909–918.
75. *Martinez O.M., Rosen H.R.* Basic concept in transplant immunology // *Liver Transplantation*. 2005. Vol. 11 (4). P. 370–381.
76. *Matsuo K., Sekido H., Morioka D. et al.* Surveillance of perioperative infections after adult living donor liver transplantation // *Transplant Proc*. 2004. Vol. 36 (8). P. 2299–2301.
77. *Michaels P.J., Fishbein M.C., Colvin R.B.* Humoral rejection of human organ transplants // *Springer Semin Immunopathol*. 2003. Vol. 25. P. 119–140.
78. *Miller D.M., Thornley T.B., Greiner D.L., Rossini A.A.* Viral Infection: A Potent Barrier to Transplantation Tolerance // *Clin. Dev. Immunol*. 2008. Vol. 2008. P. 742–810.
79. *Moeller J., Krukemeyer M.G., Morawietz L. et al.* Molecular case report: IgVH analysis in acute humoral and cellular liver allograft rejection suggests a selected accumulation of effector B cells and plasma cells // *Virchows Arch*. 2005. Vol. 446. P. 325–332.
80. *Nagral A., Ben-Ari Z., Dhillon A.P., Burroughs A.K.* Eosinophils in acute cellular rejection in liver allografts // *Liver Transpl. Surg*. 1998. Vol. 4 (5). P. 355–362.
81. *Najafi an N., Albin M.J., Newell K.A.* How Can We Measure Immunologic Tolerance in Humans // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2006. Vol. 17. P. 2652–2663.
82. *Neil D.A.H., Hübscher S.G.* Current views on rejection pathology in liver transplantation // *Transplant International*. 2010. Vol. 23 (10). P. 971–983.
83. *Neil D.A.H., Hübscher S.G.* Histologic and biochemical changes during the evolution of chronic rejection of liver allografts *Hepatology*. 2002. Vol. 35 (3). P. 639–651.
84. *O'Farrelly C.* Immunoregulation in the liver and its extrahepatic relevance // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. 2004. Vol. 39 (Suppl 3). P. 727–728.
85. *Paterson H.M., Murphy T.J., Purcell E. et al.* Injury primes the innate immune system for enhanced toll-like receptor reactivity // *Immunol*. 2003. Vol. 171. P. 1473–1483.
86. *Regev A., Molina E., Moura R. et al.* Reliability of histopathologic assessment for the differentiation of recurrent hepatitis C from acute rejection after liver transplantation // *Liver Transpl*. 2004. Vol. 10 (10). P. 1233–1239.
87. *Sankary H., Foster P., Hart M. et al.* An analysis of the determinants of hepatic allograft rejection using stepwise logistic regression // *Transplantation*. 1989. Vol. 47. P. 74–77.
88. *Sawada T., Shimizu A., Kubota K. et al.* Lobular damage caused by cellular and humoral immunity in liver allograft rejection // *Clin. Transplant*. 2005. Vol. 19. P. 110–114.
89. *Sayegh M.H., Carpenter C.B.* Transplantation 50 Years Later—Progress, Challenges, and Promises // *NEJM*. 2004. Vol. 26 (351). P. 2761–2766.
90. *Schemedlmg M., Dankof A., Krenn V. et al.* C4d in acute rejection after liver transplantation – a valuable tool in differential diagnosis to hepatitis C recurrence // *Am. J. Transplant*. 2006. Vol. 6. P. 523–530.
91. *Scheuer P.J.* Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment // *J. Hepatol*. 1991. Vol. 13. P. 372–374.
92. *Selin L.K., Brehm M.A.* Frontiers in Nephrology Heterologous Immunity, T-Cell Cross-Reactivity, and Alloreactivity // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2007. Vol. 18. P. 2268–2277.
93. *Shaked A., Ghobrial R.M., Merion R.M. et al.* Incidence and severity of acute cellular rejection in recipients undergoing adult living donor or deceased donor liver transplantation // *Am. J. Transplant*. 2009. Vol. 9. P. 301–308.
94. *Snover D.C., Freese D.K., Sharp H.L. et al.* Liver allograft rejection. An analysis of the use of biopsy in determining outcome of rejection // *Am. J. Surg. Pathol*. 1987. Vol. 11 (1). P. 1–10.
95. *Snover D.C., Sibley R.K., Freese D.K.* Orthotopic liver transplantation: a pathologic study of 63 serial liver biopsies from 17 patients with specific reference to the diagnostic features and natural history of rejection // *Hepatology*. 1984. Vol. 4. P. 1212–1222.
96. *Sun Z., Wada T., Maemura K. et al.* Hepatic allograft-derived Kupffer cells regulate T-cell response in rats // *Liver Transpl*. 2003. Vol. 9. P. 489–497.

97. *Tippner C., Nashan B., Hoshino K. et al.* Clinical and subclinical acute rejection early after liver transplantation: contributing factors and relevance for the long-term course // *Transplantation*. 2001. Vol. 72 (6). P. 1122–1128.
98. *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. Vol. 131 (Suppl 1). P. 200–204.
99. *Valiante N.* Natural killer cells and other variations on the theme of a cytotoxic lymphocyte. Hepatic Inflammation and Immunity Meeting, Galveston, TX, March 24, 2002.
100. *Wertheimer A.W., Bakke A., Rosen H.R.* Direct enumeration and functional assessment of circulating dendritic cells in patients with liver disease // *Hepatology*. 2004. Vol. 40. P. 335–345.
101. *Yu Y.Y., Ji J., Zhou G.W., Shen B.Y. et al.* Liver biopsy in evaluation of complications following liver transplantation // *World J. Gastroenterology*. 2004. Vol. 10 (11). P. 1678–1681.
102. *Yu Y.Y., Shen B.Y., Zhou G.W. et al.* Application of Banff schema in grading acute rejection following transplantation // *Zhonghua Qiguan Yizhi Zazhi*. 2003. Vol. 24. P. 76–77.

## ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ В ХИРУРГИИ И ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ

Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Цирульникова О.М.

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»  
Минздравсоцразвития России, г. Москва

Представлен обзор современных данных о бактериофагах и их применении в хирургии. Интерес к бактериофагам тесно связан с актуальностью проблемы послеоперационных инфекционных осложнений и увеличения резистентности нозокомиальных штаммов микробов к антибиотикам. Описано успешное доказательное применение бактериофагов на экспериментальных моделях для редукции условно-патогенных микробов в биопленках, для лечения септицемии у животных, вызванной МРШ синегнойных, кишечных палочек, клебсиелл, стафилококков и других микробов. Получены положительные результаты по применению бактериофагов в хирургии при лечении инфицированных ран, перитонита, инфекционных осложнений после трансплантации печени и почки. Приведены новые механизмы действия бактериофагов, в том числе их влияние на трансплантационный иммунитет. Перспективно использование фагов как альтернативы для лечения и профилактики суперинфекции у иммунокомпрометированных пациентов.

*Ключевые слова:* бактериофаги, антибиотикорезистентность, нозокомиальные штаммы, хирургия.

## POSSIBILITIES OF BACTERIOPHAGES APPLICATION IN SURGERY AND TRANSPLANTATION

Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Tsirulnikova O.M.

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

The review of the modern data about bacteriophages and to their application to surgery is presented. Interest to bacteriophages is closely connected with an urgency of a problem of postoperative infectious complications and to resistance increase nosocomial species microbes to antibiotics. Successful demonstrative application of bacteriophages on experimental models for a reduction of is conditional-pathogenic microbes in biofilms, for treatment septicemia at the animals, caused resistance species *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* and other microbes is described. Positive results on application of bacteriophages in surgery are received at treatment of the infected wounds, peritonitis, infectious complications after liver and kidney transplantation. New mechanisms of action of bacteriophages, including their influence on transplantology immunity are resulted. Use of phages as alternatives of treatment and preventive maintenance of a superinfection at immunocomprometive patients is perspective.

*Keywords:* bacteriophages, antibioticoresistance, nosocomial strains, surgery.

В последние десятилетия повсеместно наблюдается рост частоты нозокомиальных инфекций, представляющих угрозу жизни пациентов, значительно утяжеляющих их состояние [3, 15, 19]. Вместе с тем эта драматическая ситуация тесно связана со снижением эффективности антибиотикотерапии нозокомиальных инфекций, в том числе послеоперационных, из-за увеличивающейся антибиотикорезистентности (АБР) бактерий [3, 14, 20, 21]. В послед-

ние декады констатируется интенсивное распространение АБР-штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных осложнений, получившее название эпидемии резистентности. По оценке ВОЗ, в настоящее время порядка 60% микробов нечувствительны к основным антибактериальным препаратам, а через 10–20 лет практически все существующие микроорганизмы приобретут резистентность к АБ. Еще в 2001 г. ВОЗ опубликова-

*Статья поступила в редакцию 09.01.12 г.*

**Контакты:** Горская Елена Михайловна, д. м. н., ст. научный сотрудник бактериологической лаборатории.

**Тел.** 8 905 519 09 31, **e-mail:** egorskaya@mail.ru

ла Генеральную стратегию по сдерживанию резистентности к противомикробным препаратам. Она направлена на содействие разумному применению АБ с целью минимизации АБР. В настоящее время остро ощущается дефицит новых современных АБ. В то же время развитие резистентности к АБ госпитальных штаммов микроорганизмов значительно опережает создание новых препаратов, которое требует вложения громадных средств и длительного времени. В хирургических стационарах и трансплантологических клиниках эта проблема приобретает наиболее острое значение как из-за многочисленных инвазивных манипуляций и устройств, тяжелых высокотехнологичных операций, так и из-за контингента пациентов с иммунодефицитными состояниями [2, 9, 14, 23, 25, 41]. Критическое положение с АБР-бактериями побудило к поиску альтернативных антибиотикам средств профилактики и лечения инфекционных осложнений: использование бактериофагов, про-, пре-, синбиотиков и др.

Бактериофаги – вирусы, обладающие селективным бактерицидным эффектом. С помощью литических ферментов фагов быстро разрушается клеточная стенка бактерий. Вспыхнувший к ним большой интерес стимулировал клинические исследования по применению фагов. Бактериофаги чаще всего вводили орально для лечения дизентерии, брюшного тифа, холеры, пиогенных инфекций и инфекций мочевых путей, сепсиса, остеомиелита, дерматита, эмпиемы и пневмонии, вызванных различными патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) [1, 7, 10, 13, 26, 29, 32]. В хирургии фаги стали применять с 1921 г. и отмечали их эффективность при раннем введении, с редкими гастроинтестинальными и аллергическими побочными реакциями [11, 13]. Помимо орального введения фаги наносили на место поражения, применяли в аэрозолях и клизмах. Но затем из-за успешного применения антибиотиков (АБ), особенно при тяжелых осложнениях, бактериофаги стали использоваться все реже и реже. С 1980–1990 гг. XX в. интерес к бактериофагам начал возрождаться в результате широкого распространения антибиотикорезистентных нозокомиальных штаммов.

Существует обширный спектр бактериофагов, выпускаемых в нашей стране: сальмонеллезный, брюшнотифозный, дизентерийный, стафилококковый, стрептококковый, клебсиеллезный, синегнойный, протейный, коли и др. Следует упомянуть также комплексные препараты, представляющие собой набор фагов сразу к нескольким возбудителям: это пиобактериофаг и секстафаг для лечения гнойно-септических заболеваний и интестибактериофаг против кишечных инфекций, коли-протейный и др. [4, 7, 10]. Основными производителями бактериофагов у нас в стране являются НПО «Иммунопре-

парат» (Уфа), предприятие по производству бактериальных препаратов (Нижний Новгород), МП «Биофон» (Саратов), НПО «Биомед» (Пермь). Препараты фагов представляют стерильный фильтрат бактериальных фаголизатов. В результате специфического взаимодействия фагов с бактериями первоначально происходит их адсорбция на бактериальной клетке, затем цикл внутриклеточного размножения фагов с последующим лизисом бактериальной клетки. Зрелые фаговые частицы выходят из бактериальной клетки и затем инфицируют другие. Фаги способны быстро проникать в кровь и лимфу и выводятся через почки с мочой. Уже через 2 часа после приема 30 мл бактериофага фаговые частицы обнаруживаются в моче, а максимальная их концентрация достигается через 6–8 час. Экспериментальными работами доказана невозможность передачи плазмид-устойчивости к АБ и токсигенности препаратами бактериофагов [9]. Основным условием их успешного применения является проверка выделенной культуры на чувствительность к соответствующему фагу.

Терапия фагами стала рассматриваться как дополнительная и даже альтернативная для лечения и профилактики инфекционных осложнений. Представлен опыт применения лечебных бактериофагов у 13 больных с распространенным гнойным перитонитом при многократных санациях брюшной полости. Были использованы специфические фаги, чувствительные к выделенным из перитонеального экссудата после санации нозокомиальным штаммам, в частности, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *E. coli*, *E. bovis*. После каждой санации в брюшную полость вводили по 200 мл раствора комбинированного препарата бактериофага (интести или коли-протейного), а также 2 раза в сутки с момента наложения до момента закрытия лапаростомы те же бактериофаги вводили в желудочно-кишечный тракт через зонд или клизму. Авторы считают, что использование уже имеющихся фагов, а также создание новых адаптированных фаговых препаратов для применения при распространенном гнойном перитоните с целью профилактики инфицирования госпитальными штаммами весьма перспективно в плане повышения эффективности лечения этой тяжелой категории больных [6].

Сообщается об успешном применении в хирургической клинике поливалентного пиобактериофага у 27 пациентов с инфекционными осложнениями хирургических ран. Основными возбудителями осложнений были *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes*, а также ассоциации стафилококков с грамотрицательными бактериями (*Escherichia coli* и *Proteus vulgaris*). Фаг наносили на рану стерильным тампоном через 5 мин после ее хирургической обработки. Применение фага в 2–2,5 раза сокраща-

ло сроки заживления ран. Кроме того, авторы отметили высокую эффективность препарата поливалентного пиобактериофага для предупреждения развития госпитальной инфекции путем аэрозольной обработки воздуха помещения хирургического отделения [24].

Представлена работа польских ученых с описанием случая лечения тяжелого пациента только фагами без АБ. Больной имел подпеченочный и поддиафрагмальный абсцессы и тонкокишечный свищ после резекции желудка. Возбудителем инфекции была кишечная палочка, резистентная ко всем применяемым АБ. Пациент получал после хирургического лечения только специфические бактериофаги и выписан из клиники на 33-й день без абсцессов [35].

Отмечены положительные результаты после применения фагов у 94 больных с острыми термическими поражениями. Пациенты получали комбинированный бактериофаг по 2 таблетки в течение 7 дней. Кроме того, фаги получали 45 пациентов с площадью ожога > 20% на фоне антибиотикотерапии, а 9 больных с площадью ожога < 20% – только бактериофаги. Схема применения – та же. У пациентов с подозрением на сепсис, вызванный клебсиеллами, энтеробактерами, использовали монофаги в жидком виде – по 20 мл 3 раза в день за 1–1,5 часа до еды. Курс лечения составил 7–14 дней. У больных, получавших фаги, раньше купировались гнойно-септические осложнения, нормализовалась температура тела, быстрее проходило очищение ран. В 2 раза снизилась высеваемость из ран стафилококков и энтерококков. Число пациентов с положительными гемокультурами сократилось с 55 до 36,8%. В группе больных, пролеченных бактериофагами, летальность составила 3,7%, в то время как в контрольной группе без использования фагов – 15,1%. При изучении кинетики фагов после перорального приема обнаружено, что фаговые частицы обнаруживались через 1 час в крови, бронхиальном содержимом, спинномозговой жидкости, поверхности ожоговых ран и в моче. Длительность пребывания бактериофагов в организме после однократного приема составила 7 и более суток [12].

Согласно результатам американских ученых, бактериофаги могут применяться для эрадикации носительства стрептококков группы А без воздействия на нормальную микрофлору слизистых оболочек. Из стрептококкового фага была выделена муреиновая гидролаза (лизин). Этот фермент специфичен в отношении стрептококков групп А, С и Е и не обладает активностью против других стрептококков и микроорганизмов, которые являются нормальными обитателями полости рта и носоглотки. Используя очищенный лизин *in vitro*, исследователи

доказали, что 10 нг фермента (1000 ед.) достаточно для эрадикации 10 млн стрептококков в течение 5 секунд. При введении мышам в полость рта сначала 250 ед. лизина однократно, а затем стрептококков в количестве 10 млн КОЕ изучаемый фермент обеспечивал защиту от колонизации в сравнении с контрольной группой, которой фермент не вводился. В опытной группе было инфицировано 28,5% мышей против 70,5% в контрольной ( $p < 0,03$ ). Когда лизин вводили мышам с высокой степенью колонизации ротоглотки стрептококками орально в дозе 500 ед., данных микроорганизмов не было обнаружено через 2 часа после лечения лизином [40].

Ранее эффективность фагов оценивалась исключительно клинически; детали дозировки и клинические критерии были схематичны, но затем появились доказательные работы на экспериментальных моделях. Так, в экспериментальной работе польских исследователей у СВА-мышей вызывали химиотерапевтически индуцированную иммуносупрессию с последующей трансплантацией сингенного костного мозга и инфицировали сублетальными и летальными дозами бактерий *Staphylococcus aureus*. Применение фагов значительно уменьшает бактериальную нагрузку на печень и селезенку, что подтверждалось более чем 90% снижением количества высевов бактерий. Среди мышей, получавших фаги, длительно выживали 72% против 8,2% выживших животных среди не получавших фаги. Кроме того, обнаружено увеличение числа лейкоцитов и нейтрофилов в крови опытных мышей и содержания миелоцитов в костном мозге. Таким образом, в результате введения фагов обнаружен протективный эффект у иммунодепрессированных мышей, как прямой – бактериолитический, так и непрямой – стимуляция миелопоэза [51]. Бактериофаги были использованы для лечения септицемии у мышей, вызванной МРШ *Pseudomonas aeruginosa*. Модель септицемии была получена внутрибрюшинным введением мышам 10 млн КОЕ/мл штамма. Все мыши погибли через 48 часов. Одна внутрибрюшинная инъекция специфического фага в опытной группе через 45 минут после введения бактерий была достаточной для выживания животных. При более позднем введении бактериофага уже умирающим животным 50% из них выжили. Когда штамм синегнойной палочки был убит нагреванием, такого эффекта не получено, т. к. фаги могут проявлять свой литический эффект только в отношении жизнеспособных бактерий. Авторы пишут, что множественно резистентные бактерии открыли второе окно в фаговой терапии [46]. Аналогичные результаты получены при использовании фагов на экспериментальных моделях с МРШ *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, имипенем-резистентным штаммом *P. aeruginosa*,

ванкомицин-резистентным штаммом *Enterococcus faecium*, MRSA+ [27, 31, 43, 45, 48, 49].

Успешной оказалась и терапия экспериментальной клебсиеллезной пневмонии у мышей, осложненной абсцессом печени и бактериемией [33]. Специалисты Института трансплантации Медицинского Университета Варшавы (Польша), признав МРБ основными возбудителями инфекционных осложнений, обратили свое внимание в «пост-антибиотическую эру» на бактериофаги. По их мнению, применение фагов-вирусов трансплантированным пациентам безопасно потому, что они в отличие от других вирусов не увеличивают риск отторжения трансплантата. Представлено доказательство, что они даже могут давать иммуносупрессивный эффект, увеличивая приживание трансплантата. Бактериофаги значительно ингибировали Т-клеточную активацию и пролиферацию, также как активацию ядерной транскрипции фактора NF-каппа В в ответ на вирусный патоген. Введение фага *in vivo* могло уменьшить клеточную инфильтрацию аллогенного кожного трансплантата. Данные авторов показали, что фаги могут использоваться в клинической трансплантологии, чтобы лечить от инфекций, вызванных резистентными бактериями, и, возможно, являться дополнительным средством иммуносупрессивной терапии [30].

В исследованиях Парфенюк Р.Л. по фармакокинетике фагов показано, что при пероральном применении последние обладают высокой проникающей способностью в ткани. После приема препаратов бактериофагов фаговые частицы выделялись из крови через 1 час, из содержимого бронхов – через 1,5–2 часа, из мочи – через 2 часа [16].

В статье отечественных авторов сообщается о случае эффективного применения бактериофага у больной с почечным аллотрансплантатом для местного лечения гнойно-септических осложнений [18].

В работе японских исследователей оценена терапия бактериофагами сепсиса, вызванного *Pseudomonas aeruginosa*, у мышей, что соответствует клинической патофизиологии септицемии у человека. Оральное введение свежевыделенного препарата литического фага защищало 66,7% мышей от смертности в обработанной группе против 0% – в контрольной, которой вводили солевой раствор. У леченных фагом мышей имелось низкое количество *P. aeruginosa* в крови, печени и селезенке. Уровень воспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли, интерлейкинов IL-6, IL-1  $\beta$ ) в крови и печени был значительно ниже у леченных фагом мышей, чем у контрольных. Количество синегнойных палочек у животных, получавших бактериофаг, оказалось значительно меньшим, чем у нелеченных. Авторы заключают, что оральное введение фагов может быть эффективно в лечении сепси-

са, вызванного *P. aeruginosa* и происходящего из кишечника [50].

*P. aeruginosa* чаще вызывает септицемию у иммунокомпрометированных пациентов, чем другие бактерии. Колонизация синегнойной палочкой оказывает отрицательный эффект на функцию легких. Хотя терапия АБ рассматривается как более эффективная против инфекций, вызванных этим микроорганизмом, такая терапия часто бывает неэффективной из-за множественной резистентности микроорганизмов к АБ. Множественнорезистентные бактерии (МРБ) являются причиной тяжелых заболеваний легких. Французские ученые воспроизводили на мышцах кистозный фиброз, вызванный МР штаммом *P. aeruginosa*. Одну дозу специфического бактериофага вводили через 2 часа после инфицирования и получали 95% выживаемость. 4 дня превентивного лечения (1 доза) обеспечивали 100% выживаемость животных. Эта экспериментальная работа является обоснованием по применению терапии бактериофагами для лечения в клинике легочных инфекций, вызванных МРШ [39].

Неэффективность АБ нередко обусловлена их неспособностью проникать через биопленки, образуемые многими нозокомиальными штаммами с последующей селекцией штаммов АБР-бактерий. В исследовании английских ученых использованы литические бактериофаги для лечения и предотвращения образования биопленки бактериальными видами, наиболее часто связанными с катетер-ассоциированными инфекциями мочевого тракта (*Proteus mirabilis* и *E. coli*). Популяция биопленки была редуцирована постепенно на биоматериале катетеров Фоля после импрегнации гидрогелем с литическим бактериофагом. В итоге зафиксирована 90% редукция образования биопленок *Proteus mirabilis* и *E. coli* на обработанных бактериофагами катетерах при сравнении с необработанным контролем [28].

На модели биопленок определяли влияние специфического бактериофага на популяцию различных штаммов *Listeria monocytogenes*. Штаммы отличались значительной вариабельностью в образовании биопленок. Фаг Р 100 значительно уменьшал популяцию бактерий в биопленке  $-3,5-5,4 \log/\text{cm}^2$  [44].

Персистирующие инфекции мочевого тракта часто вызываются кишечными палочками, прилипшими к эпителию. Этот тип клеток распознается как толерантный к АБ, которыми трудно лечить хронические инфекции. В исследовании *in vitro* использованы литические бактериофаги как альтернатива антимикробным агентам в результате взаимодействия фагов с кишечными палочками, прилипшими к уроэпителию. Были тестированы 3 типа бактериофагов против различных концентраций клинических изолятов *E. coli*, и только один Т1-подобный

фаг выбран для дальнейших экспериментов. Этот фаг вызвал уменьшение на 45% бактериальной популяции после 2 часов лечения. Исследователи заключают, что фаги эффективны в контроле прилипания кишечных палочек к уроэпителию и могут быть альтернативой АБ [42].

Известны трудности лечения простатита АБ как из-за резистентности к ним бактерий, образующих биопленки в органе, так и благодаря труднодоступности их к инфекционному очагу. Описано возможное перспективное применение для лечения простатита фаговой терапии [36].

В НИИ урологии (Москва) накоплен положительный опыт применения бактериофагов при уроинфекциях. Основными возбудителями последних являются полирезистентные штаммы кишечной и синегнойной палочек. Исходная чувствительность основных патогенов к фагам составляла 47,5–57,5%. В результате адаптации некоторых препаратов фагов к нозокомиальным штаммам микробов, циркулирующих в клинике, фагочувствительность повысилась на 15%. На фоне длительного использования фагов в стационаре среди госпитальных штаммов не было отмечено фагоустойчивости, в то время как резистентность к АБ уменьшалась, видимо, из-за снижения их использования. Клиническая эффективность фаготерапии составила 92%, зачастую превосходя результаты антибиотикотерапии [17].

В большинстве работ описано в основном специфическое литическое действие фагов на бактерии. Поэтому весьма интересны исследования, обнаружившие другие стороны механизма действия фагов. В статье Н.А. Терехиной, М.М. Падруль, Е.Л. Макаровой сообщается о результатах влияния бактериофага на показатели обмена железа и меди у беременных с пиелонефритом. При комплексном лечении этих женщин, имеющих железодефицитную анемию, с использованием бактериофага отмечено улучшение показателей обмена железа и меди: повышался уровень сывороточного железа, снижался уровень трансферрина. При этом специально терапию препаратами железа и меди женщинам не проводили. Авторы считают, что бактериофаг способствует активации антиоксидантной защиты [22].

В проведенных нами исследованиях была определена фаголизательность 239 госпитальных штаммов, выделенных в трансплантологической клинике от больных с инфекционными осложнениями, большей частью послеоперационными. Чувствительность стафилококков, в основном метициллинрезистентных, МР синегнойных палочек и кишечных палочек составила соответственно 71, 68 и 67%. Штаммы микроорганизмов, изолированные из разных субстратов одного и того же больного (клинически тяжелого), часто были идентичны по фаголиза-

бельности. Выявлены штаммы грамположительной и грамотрицательной микрофлоры с множественной резистентностью к АБ, но чувствительностью к фагам [4]. Бактериофаги использованы для лечения больных с инфекционными осложнениями: при уроинфекциях после ортотопической трансплантации почки, ангинах и тонзиллитах у пациентов до и после ортотопической трансплантации сердца и реконструктивных операций на сердце, при раневых инфекциях и бактериемии. Возбудителями при уроинфекциях были преимущественно *Enterococcus faecalis* и *E. faecium*, при тонзиллитах – *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, при раневых инфекциях – *S. aureus* и *CNS* – коагулазоотрицательные стафилококки. Пациенты получали бактериофаги перорально по 30 мл за 30–40 мин до еды 3 раза в день в течение 7–10, иногда 14 дней. В ряде случаев лечение сочеталось с введением АБ и иммуномодуляторов. У больных с раневой инфекцией помимо перорального приема применялось промывание ран фагами, у больных с тонзиллитами – полоскание горла. Положительный эффект в виде улучшения общего состояния (на фоне традиционной терапии), снижения интоксикации, уменьшения количества микробов в очагах инфекции или полная элиминация отмечены в 80%. Особо отметим случай успешного применения фиобактериофага у пациентки после реконструктивной операции на сердце с развитием гнойного процесса в дыхательных путях. Введение бактериофага в плевральную полость сопровождалось кратковременной лихорадкой с последующим улучшением клинического состояния и элиминацией возбудителя – стафилококка. Побочная реакция (аллергическая) на введение фагов отмечена только у одной больной – появление кожных высыпаний на фоне красной волчанки [5].

Описан случай успешного применения бактериофагов для лечения пациентки с почечным трансплантатом, имеющей тяжелые гнойно-септические осложнения. Гнойно-септические осложнения в трансплантологических клиниках составляют важную проблему ввиду указанной АР возбудителей, оказывая отрицательное влияние на выживаемость трансплантатов. В приводимой статье у больной через 3 года после второй пересадки почки развилась флегмона забрюшинного пространства, в последующем осложненная флегмоной бедра и абсцессом ягодицы. Проведены необходимые оперативные вмешательства. Возбудителем оказалась *Klebsiella pneumoniae*, чувствительная к ряду АБ. Несмотря на проводимое лечение с включением ультрафиолетового облучения, гипербарооксигенации, состояние пациентки ухудшилось. Развилась картина сепсиса и ДВС-синдрома. Из отделяемого ран и крови изолирована также *K. pneumoniae*, но уже МР, чувствительная только к цефотаксиму, интестифагу и поли-



валентному пиобактериофагу. Больная стала получать указанный АБ, а в рану введен интести-фаг. На 2–3-й день местного применения фага отмечена положительная динамика состояния раны: уменьшение раневого отделяемого, прекращение прогрессирования некроза. После продолжения местного лечения пиобактериофагом и антибиотиком в ране появились грануляции. Общее состояние больной улучшилось, исчезла интоксикация; посевы из крови и раневого отделяемого были стерильными. Пациентка выписана с функционирующим почечным трансплантатом [18].

Госпитальные изоляты, особенно выделенные от иммунодепрессированных пациентов, отличаются значительной вирулентностью, устойчивостью к антибиотикам и другим химиопрепаратам.

Сотрудники Института бактериофагов (США) считают, что лет через десять производство бактериофагов станет одной из лидирующих отраслей в фармацевтической промышленности [34].

Преобладание среди нозокомиальных штаммов МРШ мотивировало попытки увеличения терапевтического эффекта бактериофагов. Ряд исследований развивались в направлении пролонгирования персистенции фагов в циркуляции. В этом отношении интересна статья американских исследователей [38]. Авторами созданы мутанты, которые не захватываются клетками ретикуло-эндотелиальной системы и длительно персистируют. Это улучшает способность фагов взаимодействовать с патогенами, вызвавшими заболевание. Ставится задача скрининга фагов с генами, индуцирующими лизогенность, без наличия генов АБР и свободных от контаминирующих токсинов. Создание таких фагов может снабдить инструментом для лечения болезней, вызванных бактериями.

Накоплен определенный опыт по применению бактериофагов в эпидемиологической практике. Исследовался интермиттирующий и непрерывный режим аэрозольного фагирования внешней среды ОРИТ разными фагами. Непрерывный режим проводился не менее 2 мес. и приводил к низкому уровню обсемененности, однако происходило формирование устойчивых к фагам форм бактерий. Поэтому предпочтительным оказался интермиттирующий режим – 1 раз в неделю, перерыв 3 недели, потом снова фагирование. Наилучший эффект достигался при использовании синегнойного бактериофага – полная элиминация возбудителя регистрировалась в течение суток после однократного применения с отсутствием впоследствии новых случаев синегнойной инфекции. При применении клебсиеллезного и стафилококкового бактериофагов эффект был менее выражен и продолжителен. Авторы заключают, что фагирование может быть методом биологической дезинфекции для элиминации возбудителя и профи-

лактики контаминации больничной среды в реанимационном отделении в присутствии пациентов, если традиционные дезинфектанты неэффективны [8].

Научная методология может быть направлена на терапию фагами как автономную терапию для инфекций, которые являются полностью стойкими к антибиотикам [32, 37, 47].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Асланов Б.И., Яфаев Р.Х., Зуева Л.П. Пути рационального использования синегнойных бактериофагов в лечебной и противозидемической практике // Журн. микробиол. 2003. № 5 (6). С. 72–76.
2. Бокерия Л.А., Белобородова Н.В. Инфекция в кардиохирургии. М., 2007. 580 с.
3. Внутрибольничные инфекции / Под ред. Р.П. Венцеля. М., 2002.
4. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Спирина Т.С., Дарбеева О.С. и др. Чувствительность нозокомиальной микрофлоры, циркулирующей в трансплантационной клинике, к лечебным бактериофагам // Журн. микроб., эпидем. и иммунобиологии. 2004. № 6. С. 6–9.
5. Горская Е.М., Габриэлян Н.И., Спирина Т.С., Дарбеева О.С. др. Бактериофаги в лечении госпитальных инфекций в трансплантологической клинике // Труды Международного хирургического конгресса «Актуальные проблемы современной хирургии». М., 2003. С. 80.
6. Гостищев В.К., Станоевич У.С., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. и др. Третичный перитонит: возможности его профилактики // Хирургия. № 9. С. 15–18.
7. Дарбеева О.С., Майская Л.М., Перепанова Т.С. Опыт использования адаптированных препаратов бактериофагов // Биопрепараты. 2002. № 1. С. 13–17.
8. Дроздова О.М., Брусина Е.Б. Применение бактериофагов в эпидемиологической практике: взгляд через столетие // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2010. № 5. С. 20–24.
9. Инфекции в трансплантологии / Под ред. С.В. Готье. М., 2010. 382 с.
10. Казьянин А.В., Орлова Е.В., Ефимова М.Г., Функнер Е.В. и др. Бактериофаги: опыт производства и применения // Фармация. 2010. № 3. С. 36–37.
11. Кюттер Э. Фаговая терапия: бактериофаги как антибиотики. СПб., 2001.
12. Лазарева Е.Б. Бактериофаги и пектины в коррекции нарушений микробиоценозов при гнойно-воспалительных процессах: Автореф. дис. ... докт. мед. наук М., 2007.
13. Лахно В.М., Бордуновский В.Н. Применение фаготерапии в хирургической практике // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2001. Т. 160. № 1. С. 122–125.
14. Матвеев А.С. Антибактериальная терапия у хирургических больных с нозокомиальной абдоминальной инфекцией: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010.
15. Нозокомиальные инфекции: Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред.

- Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. М., 2002. 350 с.
16. *Парфенюк Р.Л.* Микробиологические основы пероральной фаготерапии гнойно-воспалительных заболеваний: Автореферат дис. ... канд. биол. наук. М., 2004.
  17. *Перепанова Т.С.* Комплексное лечение и профилактика госпитальной инфекции мочевых путей: Автореферат дис. ... докт. мед. наук. М., 1996.
  18. *Прокопенко Е.И., Щербакова Е.О., Ватазин А.В., Будникова Н.Е. и др.* Применение бактериофага для лечения гнойно-септических осложнений у больной с почечным аллотрансплантатом // Урология. 2005. № 6. С. 43–46.
  19. *Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Козлов Р.С.* Современные аспекты эпидемиологии, диагностики и лечения нозокомиальной пневмонии. 2008; 10 (2). С. 143–153.
  20. *Сидоренко С.В., Яковлев С.В.* Инфекции в интенсивной терапии. 2-е изд. М.: Бионика, 2003. 208 с.
  21. *Страчунский Л.С., Решедько Г.К., Стецюк О.У. и др.* Сравнительная активность антисинегнойных антибиотиков в отношении нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии в России // КМАХ. 2003. № 1. Т. 5. С. 35–46.
  22. *Терехина Н.А., Падруль М.М., Макарова Е.Л.* Влияние бактериофага на содержание железа и меди в сыворотке крови беременных с пиелонефритом // Клини. лабор. диагностика. 2008. № 6. С. 23–24.
  23. Трансплантология: Руководство для врачей / Под ред. акад. В.И. Шумакова. М., изд. 2-е. 2006.
  24. *Хайруллин И.Н., Поздеев О.К., Шаймарданов Р.Ш.* Эффективность применения специфических бактериофагов в лечении и профилактике хирургических послеоперационных инфекций // Казанский мед. журнал. 2002. № 4. С. 258–261.
  25. *Яковлев С.В.* Время для переоценки места карбапенемов при нозокомиальных инфекциях // Русский мед. журнал. 2006. Т. 14. № 7. С. 30–35.
  26. *Iczkowski K., Rapoport A., Troitsky N.* Bacteriophages show promise as antimicrobial agents // J. Infect. 1998. Vol. 36 (1). P. 5–15.
  27. *Biswas B., Adhya S., Washart P. et al.* Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* // Infect. Immun. 2002. Vol. 70 (1). P. 204–210.
  28. *Carson L., Gorman S.P., Gilmore B.F.* The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2010. Vol. 59 (3). P. 447–455.
  29. *Duckworth D.H., Gulig P.A.* Bacteriophages: Potential treatment for bacterial infections // Biodrug 2002. Vol. 16. P. 57–62.
  30. *Gorski A., Nowaczyk M., Weber-Dabrowska B. et al.* New insights into the possible role of bacteriophages in transplantation // Transplant. Proc. 2003. Vol. 35 (6). P. 2372–2373.
  31. *Gu J., Xu W., Lei L. et al.* LysGH15, a novel bacteriophage lysin, protects a murine bacteremia model efficiently against lethal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection // J. Clin. Microbiol. 2011. Vol. 49 (1). P. 1–7.
  32. *Harper D.R., Enright M.C.* Bacteriophages for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections // Appl. Microbiol. 2011. Vol. 111 (1). P. 1–7.
  33. *Hung C.H., Kuo C.F., Wang C.H. et al.* Experimental phage therapy in treating *Klebsiella pneumoniae*-mediated liver abscesses and bacteremia in mice // Antimicrob. Agents Chemother. 2011. Vol. 55 (4). P. 1358–1365.
  34. *Kutateladze M., Adamia R.* Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or antibiotics // Trends Biotechnol. 2010. Vol. 28 (12). P. 591–595.
  35. *Kwarcinski W., Lazarkiewicz B., Weber-Dabrowska B. et al.* Bacteriophage therapy in the treatment of recurrent subphrenic and subhepatic abscess with jejunal fistula after stomach resection // Pol. Tyg. Lek. 1994. Vol. 49 (23–24). P. 535.
  36. *Letkiewicz S., Międzybrodzki R., Klak M. et al.* The perspectives of the application of phage therapy in chronic bacterial prostatitis // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2010. Vol. 60 (2). P. 99–112.
  37. *Loeffler J.M., Djurkovic S., Fischetti V.A.* Phage lytic enzyme Cpl-1 as a novel antimicrobial for pneumococcal bacteremia // Infect. Immun. 2003. Vol. 71 (11). P. 6199–6204.
  38. *Merrill C.R., Biswas B., Carlton R. et al.* Long-circulating bacteriophage as antibacterial agents // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 1996. Vol. 93 (8). P. 3188–3192.
  39. *Morello E., Sausseureau E., Maura D. et al.* Pulmonary bacteriophage therapy on *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis strains: first steps towards treatment and prevention // PLoS One, 2011. Vol. 15; 6 (2). P. 16963.
  40. *Nelson D., Loomis L., Fischetti V.A.* Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2001. Vol. 98 (7). P. 4107–4112.
  41. *Ong D.S., Jongerden I.P., Buiting A.G. et al.* // Antibiotic exposure and resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* species in intensive care units // Crit Care Med. 2011. Vol. 58 (6). P. 112–115.
  42. *Sillankorva S., Oliveira D., Moura A. et al.* Efficacy of a broad host range lytic bacteriophage against *E. coli* adhered to urothelium // Curr. Microbiol. 2011. Vol. 62 (4). P. 1128–1132.
  43. *Smith H.W., Huggins M.B.* Successful treatment of experimental *E. coli* infections in mice using phage; its superiority over antibiotics // J. Gen. Microbiol. 1982. Vol. 128. P. 307–318.
  44. *Soni K.A., Nannapaneni R.* Removal of *Listeria monocytogenes* biofilms with bacteriophage P100 // Food Prot. 2010. Vol. 73 (8). P. 1519–1524.
  45. *Vinodkumar C.S., Neelagund Y.F., Kalsurmath S.J.* Bacteriophage in the treatment of experimental septicemic mice from a clinical isolate of multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* // J. Commun. Dis. 2005. Vol. 37 (1). P. 18–29.
  46. *Vinodkumar C.S., Kalsurmath S., Neelagund Y.F.* Utility of lytic bacteriophage in the treatment of multidrug-

- resistant *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in mice // *Indian. J. Pathol. Microbiol.* 2008. Vol. 51 (3). P. 360–366.
47. *Vinodkumar C.S., Makari H.K., Srinivasa H. et al.* Bacteriophage therapy: A potential use of phages in medical field // *Res. Rev. BioSciences.* 2009. Vol. 12. P. 22–28.
48. *Wang J., Hu B., Xu M., Yan Q. et al.* Use of bacteriophage in the treatment of experimental animal bacteremia from imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Mol. Med.* 2006. Vol. 17 (2). P. 309–317.
49. *Wang J., Hu B., Xu M. et al.* Therapeutic effectiveness of bacteriophages in the rescue of mice with extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia // *Int. J. Mol. Med.* 2006. Vol. 17 (2). P. 347–355.
50. *Watanabe R., Matsumoto T., Sano G. et al.* Efficacy of bacteriophage therapy against gut-derived sepsis caused by *Pseudomonas aeruginosa* in mice. 2007. Vol. 51 (2). P. 446–452.
51. *Zimecki M., Artym J., Kocieba M. et al.* Prophylactic effect of bacteriophages on mice subjected to chemotherapy-induced immunosuppression and bone marrow transplant upon infection with *Staphylococcus aureus* // *Med. Microbiol. Immunol.* 2010. Vol. 199 (2). P. 71–79.

## ОБЗОР МАТЕРИАЛОВ БАНФФ-КОНФЕРЕНЦИИ 2011 ГОДА

Траилин А.В.<sup>1</sup>, Никоненко Т.Н.<sup>1</sup>, Никоненко А.С.<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Государственное учреждение «Запорожская медицинская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения Украины

<sup>2</sup> Запорожский межрегиональный центр трансплантации

В июне 2011 года в пригороде Парижа состоялась 11-я Банфф-конференция, посвященная актуальным вопросам патологии аллотрансплантатов солидных органов. Были заслушаны доклады созданных на предыдущей конференции рабочих групп по оценке гломерулярных поражений, способам оценки интерстициального фиброза, изучению роли изолированного интимального артериита, оценке полиомавирусной нефропатии, молекулярной патологии трансплантатов и обеспечению качества иммуногистохимических исследований. Главными темами обсуждения были: антитело-опосредованное отторжение, ведение сенсibilизированных пациентов, подходы к диагностике отторжения трансплантатов на основе методов геномики и протеомики, роль протокольных биопсий. Поступили предложения пересмотреть способы оценки полиомавирусной нефропатии, гломерулита, трансплантационной гломерулопатии. Термин «эпителиально-мезенхимальное превращение» был признан неудачным и нуждающимся в замене.

*Ключевые слова:* Банфф, трансплантация, отторжение аллотрансплантата, гистологические изменения, геномные маркеры.

## BANFF-2011 CONFERENCE REPORT

Trailin A.V.<sup>1</sup>, Nikonenko T.N.<sup>1</sup>, Nikonenko A.S.<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Sl «Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education of Ministry of Health of Ukraine»

<sup>2</sup> Zaporizhzhia interregional transplantation centre

The 11th Banff Conference of solid organs allografts pathology was held in a suburb of Paris from June 6 to 10. Papers were presented by created at the previous conference working groups on the following areas: isolated v-lesion, fibrosis scoring, glomerular lesions, molecular pathology, polyomavirus nephropathy and quality assurance of immunohistochemical procedures. The main topics of discussion were antibody-mediated rejection, management of sensitized patients, the approach to the diagnosis of transplant rejection by the methods of genomics and proteomics, and the role of protocol biopsies. There were suggestions to reconsider how to assess polyomavirus nephropathy, glomerulitis, transplant glomerulopathy. Term «epithelial-mesenchymal transition» was considered inappropriate and need to be replaced.

*Key words:* Banff, transplantation, allograft rejection, histological lesions, genomic markers.

В июне 2011 года в пригороде Парижа состоялась 11-я Банфф-конференция, посвященная актуальным вопросам патологии аллотрансплантатов. Клиницисты, патологи, иммунологи, исследователи и хирурги обсуждали актуальные вопросы трансплантации солидных органов. Главными темами обсуждения были: антитело-опосредованное отторжение (АОО), концепция C4d-негативного АОО, ведение сенсibilизированных пациентов, подходы к диагностике отторжения трансплантатов на основе методов геномики и протеомики и поиск светоптические

ских маркеров, хорошо коррелирующих с изменениями экспрессии отдельных генов в трансплантате (и наоборот). Также обсуждались: обновление классификации патологии трансплантатов солидных органов; потенциальная первичность повреждения эпителия и концепция эпителиально-мезенхимального превращения (ЭМП); значение изолированного интимального артериита; значение гломерулита и способы его оценки; способы оценки патологических изменений при полиомавирусной инфекции; роль и способы оценки протокольных биопсий; роль циф-

*Статья поступила в редакцию 05.12.11 г.*

*Контакты:* Траилин Андрей Вячеславович, доцент, к. м. н.

*Тел. +38 061 279 17 19, e-mail: andrei\_traitlin@ukr.net*

ровой патологии в диагностике поражений трансплантатов.

**Созданные на предыдущей конференции рабочие группы доложили результаты своей работы.**

1. Volker Nicleleit (США) доложил результаты работы рабочей группы по классификации полиомавирусной нефропатии (ПВН). Изучалось значение морфологии, скорости развития изменений, вирусной нагрузки в диагностике ПВН и прогнозировании ее исхода. Отмечено, что выявление SV40-антигена вируса свидетельствует о его активной репликации, а его количество является индикатором вирусной нагрузки. При оценке окрашивания антителами против SV40 предлагается оценивать интенсивность реакции в баллах (0–3), процент канальцев с окрашиванием клеток ( $< 1\%$ ,  $\geq 1\%$  и  $\leq 10\%$ ,  $> 10\%$ ) и процент окрашенных тубулярных клеток. Предложено усовершенствовать предложенные ранее стадии (паттерны) ПВН следующим образом [12].

A – ранние изменения (отдельно в коре и мозговом веществе), без острого канальцевого некроза (ОКН): активная репликация вируса; его антигены можно выявить иммуногистохимически с антителами к SV40 у 57% пациентов при отсутствии цитопатических изменений.

B – острые (цветущие) изменения, активная нефропатия с вирус-индуцированным ОКН; SV40-антиген выявляется у 19% пациентов.

C – поздняя (склерозирующая) нефропатия; SV40-антиген не выявляется.

Наиболее страдает функция почечного аллотрансплантата (ПАТ) у пациентов в C-стадию, и прогноз для них однозначно хуже. Клиническая значимость различий между стадиями A и B находится под вопросом. Более выраженная атрофия канальцев и активное воспаление в биоптате, а также высокий креатинин сыворотки на момент постановки диагноза ассоциированы с худшим исходом.

Вне зависимости от стадии инфекции у всех пациентов в моче выявляются клетки-ловушки (decoy-cells). Еще одним неинвазивным маркером инфекции является выявление в моче при электронной микроскопии (ЭМ) цилиндроподобных агрегатов зрелых вирионов и белка Тамма-Хорсвелла («Haufer»). Их количество отражает степень лизиса эпителиальных клеток (ЭК) канальцев и высвобождение вирионов в просвет и коррелирует с наличием в моче клеток-ловушек, вирурией и виремией [38].

Характерно, что у 30% пациентов с ПВН в момент постановки диагноза креатинин сыворотки не изменен, что свидетельствует о необходимости протокольных биопсий. Посттрансплантационный мониторинг реактивации вируса должен включать поиск клеток-ловушек в моче и вируса в плазме мето-

дом полимеразной цепной реакции (ПЦР) вне зависимости от уровня функции ПАТ.

2. Banu Sis (Канада) и Marc Haas (США) доложили о результатах исследований рабочей группы по оценке гломерулярных поражений. Индекс трансплантационного гломерулита g имеет высокую вариабельность, плохую корреляцию с клиникой и характеризуется слабой межисследовательской воспроизводимостью. Поэтому рабочей группой были изучены несколько модификаций способа оценки гломерулита. Наилучшая воспроизводимость показана при способе оценки, учитывающем процент клубочков с моноклеарным инфильтратом и набуханием эндотелия, вызывающими полную или почти полную окклюзию одного или более просветов капилляров (опция – из подсчета исключаются частично склерозированные и ишемизированные клубочки). Эти способы, а также способ, при котором учитывается процент клубочков с моноклеарным инфильтратом без учета набухания эндотелия, показали наилучшую корреляцию с наличием в сыворотке крови анти-HLA-II-донор-специфических антител (ДСА) и с депозитами C4d в ПАТ.

Parmjeet Randhawa (США) сообщил, что если при учете процента клубочков с гломерулитом установить порог ( $\geq 5$  лейкоцитов на клубочек), то результаты коррелируют наилучшим образом с другими гистологическими изменениями (наличие капиллярита перитубулярных капилляров (ПТК), C4d-позитивность, развитие в последующем трансплантационной гломерулопатии (ТГ)), клиническими показателями (протеинурия, уровень сывороточного креатинина через один год после биопсии, появление в последующем ДСА) и являются индикатором неблагоприятного прогноза [7].

Гломерулит ассоциируется с субоптимальной функцией ПАТ. Он чаще выявляется в биоптатах с признаками смешанного отторжения: острое Т-клеточно-опосредованное отторжение (ОТОО) и острое антитело-опосредованное отторжение ОАОО, что подтверждают и наши данные [2]. В биопсиях с гломерулитом достоверно чаще выявляется C4d+-окрашивание гломерулярных капилляров (ГК), и степень окрашивания выше при наличии ДСА. В них также выявляется больше гранзим Б-позитивных лейкоцитов в клубочках и ПТК и фактора фон Виллебранда в капиллярах и мезангии, который при более тяжелом повреждении появляется в интерстиции. Эти результаты свидетельствуют, что воспаление в клубочках опосредовано как компонентом, так и клеточной цитотоксичностью [8].

James Gloor (США) в своем докладе постулировал точку зрения, что ТГ – не явление, а процесс, оценка которого имеет приемлемую межисследовательскую воспроизводимую. Он доложил результаты исследований рабочей группы, которая пред-

ложила пересмотреть текущий способ оценки ТГ. Лучшую воспроизводимость и корреляцию с С4d и ДСА показал способ, в котором учитывался процент клубочков с двойными контурами. Предиктором ТГ является капиллярит ПТК [31]. J. Gloog обратил внимание, что ультраструктурные изменения ПТК и ГК выявляются задолго до светооптических. ТГ имеет место даже при блокаде С5-компонента комплемента, что свидетельствует в пользу возможного участия НК-клеток или С3а-компонента. ТГ не всегда имеет негативный прогноз: среднее время до развития ТГ – 30 месяцев, а до потери ПАТ – 50 месяцев.

Enver Akalin (Великобритания) отметил, что имеются случаи ТГ, не опосредованные С4d и ДСА, и предложил добавить в ее классификацию С4d-/ДСА-случаи. Причинами этих случаев ТГ могут быть хроническое активное Т-клеточно-опосредованное отторжение (ХАТОО), нефротоксичность ингибиторов кальциневрина (ИКН), аутоантитела (к агрину и не-HLA-антигенам). Microarray-анализ показал, что ТГ достоверно коррелирует с признаками клеточной активации в ПАТ, в частности с увеличением содержания транскриптов ICAM1, IL10, CCL3, VCAM1, MMP 7, 9. За развитие ТГ могут быть ответственны секретлируемые моноцитами провоспалительные цитокины: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  [11]. Enver Akalin предложил также добавить к диагностическим критериям ХАТОО тубулоинтерстициальный и/или гломерулярный инфильтрат.

3. Banu Sis доложила результаты исследований рабочей группы по изучению патогенеза, диагностического и прогностического значения изолированного интимального артериита (без или с минимальным тубулоинтерстициальным воспалением), который встречается редко и имеет неустановленный прогноз. Если исключить случаи, где подозревается ОАОО, то изолированный интимальный артериит не имеет независимого прогностического значения и не влияет на выживание ПАТ. Его причинами могут быть ОТОО либо неспецифическое повреждение.

4. Helen Lapis (США) доложила предварительные результаты исследований рабочей группы по усовершенствованию методики оценки дотрансплантационных биопсий. Она подчеркнула, что дооперационные биопсии необходимы для оценки состояния органа маргинального донора, подбора оптимального реципиента и модификации тактики лечения. Объективные данные в пользу отказа от использования органа только по данным гистологии отсутствуют. Рабочая группа рекомендует оценивать количество клубочков в биопсии, процент полностью склерозированных, с признаками ФСГС и перигломерулярного фиброза, количество артерий, но не артериол, степень ОКН. Предлагается

добавить в схему оценки дооперационных биопсий оценку интерстициального (i) и тотального воспаления (ti). Значение тромбов в клубочках, артериологиалиноза, ИФ и КА, интимального фиброза еще предстоит установить. Вместе с тем имеются данные, что артериологиалиноз и артериосклероз донора являются независимыми предикторами нарушения начальной функции и субоптимального выживания ПАТ [1, 27].

Относительно методики было отмечено, что изучение замороженных срезов в целом не уступает оценке гистологии в парафиновых, однако артериологиалиноз и ИФ могут быть переоценены. Обсуждались «за» и «против» пункционной и краевой биопсий. Имеется мнение, что пункционная биопсия имеет ряд преимуществ перед краевой [50].

Функцию ПАТ от маргинальных доноров через 1 год после трансплантации наилучшим образом можно предсказать, используя комбинацию клинических (сывороточный креатинин донора перед забором  $\geq 150$  мкмоль/л, гипертензия донора) и гистологических критериев (гломерулосклероз  $\geq 10\%$ ) [6].

5. Michael Mengel (Канада) и Parmjeet Randhawa доложили результаты трайла по обеспечению качества при иммуногистохимическом выявлении С4d и ВК-вируса (BIFQUIT). Диффузное С4d-позитивное окрашивание имеет хорошую/отличную межисследовательскую и межлабораторную воспроизводимость, в отличие от фокального и минимального. Для стандартизации исследования необходима немедленная фиксация биоптатов погружением в 4% забуференный формалин на 24 часа (недофиксация – главный источник ошибок). Лучший протокол выявления С4d предусматривает использование высокотемпературной демаскировки в цитратном буфере в течение 20–40 минут. Разведение поликлональных антител должно быть не менее 1:80, а время инкубации – не менее 60 минут.

Констатировано, что иммуногистохимия для выявления ВК-вируса имеет достаточную межисследовательскую воспроизводимость, но ограниченную межлабораторную (так как используются наборы разных фирм, варьируют разведение антител против SV40-антигена вируса и время инкубации). Ввиду большой межлабораторной вариабельности и локального характера ПВН необходимо сопоставлять данные биопсийного исследования с выявлением вирусии и виремии методом ПЦР.

6. Robert Colvin (США) доложил результаты исследований рабочей группы по изучению способов оценки ИФ – визуальных и морфометрических. Для морфометрии в качестве красителей можно использовать трихром, сириус красный, иммуногистохимическое выявление коллагена III. При фотографировании нужно избегать клубочков, сосудов,

мозгового вещества и субкапсулярной коры. Разработана техника сканирования изображения со стекол. Оценка степени ИФ/КА при окраске трихромом имеет преимущества по сравнению с окраской ШИК. Таким образом, по мнению рабочей группы, лучше оценивать ИФ, чем КА. Визуальная и морфометрические методики имеют хорошую воспроизводимость ( $R = 0,74$ ,  $p = 0,0001$  [3]), однако морфометрия имеет меньшую межисследовательскую вариабельность. Наилучшую эффективность, воспроизводимость и корреляцию со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) имеют результаты морфометрии срезов, окрашенных антителами к коллагену III и визуальной оценки стекол, окрашенных трихромом [15].

Данные морфометрии ИФ свидетельствуют, что в значительной степени ИФ присутствует уже на момент трансплантации и наиболее быстро прогрессирует в первые 3 месяца жизни ПАТ, что свидетельствует о необходимости его ранней оценки. Кроме того, процент ИФ в 3 месяца имеет предикторное значение, так как коррелирует с СКФ в 3, 12 и 24, 36 и 48 месяцев [36].

## АНТИТЕЛО-ОПОСРЕДОВАННОЕ ОТТОРЖЕНИЕ (АОО)

Lynn Cornell (США) обратила внимание на значение поражений микроциркуляторного русла (МЦР) у сенсibilизированных пациентов и влияние терапии на патологические изменения. Воспаление в МЦР имеет негативные последствия для ПАТ: при выявлении в первичных биоптатах капиллярита, через 13 месяцев в повторных биоптатах регистрируется ТГ.

Anthony Chang (США) доложил результаты работ по иммунофенотипированию интимального артериита. При ОТОО и ОАОО отсутствует достоверная разница в инфильтрации интимы CD3, CD8, CD68, CD163-позитивными лейкоцитами. CD56+ NK-клетки чаще выявляются в интиме при ОАОО.

Carmen Lefaucheur (Франция) также посвятила доклад интимальному артерииту. В результате проведенного кластерного анализа оказалось, что отторжение с артериитом (как ДСА+, так и ДСА-) представляет собой промежуточную группу между ОТОО без артериита и ОАОО без артериита в плане иммунологии и прогноза. В этой группе часто выявляется тубулит (63%), и ИВ (72%), и гломерулит (88%), и капиллярит ПТК. Отторжение с артериитом не отвечает на применение стероидов, протекает более тяжело, чем ОТОО, имеет худший прогноз и часто ассоциируется с ОАОО.

Прогностическими факторами несостоятельности ПАТ у пациентов с интимальным артериитом являются 3-я степень артериита, титр ДСА более

3000 СИФ (средняя интенсивность флюоресценции) в Luminex-исследовании, сумма индексов i+tt (по Банфф-97) больше 3 баллов. СИФ позволяет также достоверно предсказать развитие АОО: для пациентов с СИФ более 6000 риск АОО возрос в 100 раз по сравнению с СИФ менее 465 [28].

Brian Nankivell (Австралия) доложил о роли ЭМ в ранней диагностике антитело-опосредованных повреждений. Ранние изменения в поврежденном эндотелии ГК и ПТК включают увеличение эндотелиоцитов в размере, их вакуолизацию, зубчатые контуры, потерю фенестр, изменения микроворсинок. Эти реактивные изменения коррелируют с уровнем ДСА. Для диагностики и прогнозирования достаточно оценить 3–4 петли капилляров на клубочек и 3–4 ПТК.

Gary Hill (Франция) посвятил свой доклад антитело-опосредованному артериосклерозу. У пациентов ДСА+ с капилляритом ПТК, гломерулитом, интерстициальным воспалением и другими признаками АОО (даже при отсутствии интимального артериита) отмечено достоверно более быстрое прогрессирование артериосклероза между 3-м и 12-м месяцами после трансплантации по сравнению с пациентами ДСА-. Наблюдения свидетельствуют, что ускоренный артериосклероз представляет собой немой, обычно сублейкоцитарный воспалительный и пролиферативный ответ [23].

Артериосклероз при старении характеризуется почти полным отсутствием клеток в фиброзированной интиме, склерозом и эластозом, тогда как при артериосклерозе в трансплантате клеточность повышена кнутри от внутренней эластической мембраны, прежде всего за счет присутствия  $\alpha$ -SMA-позитивных фибробластов. Поэтому если индекс  $cv \geq 2$ , вероятность трансплантационной артериопатии составляет 80–90%.

Поскольку артериопатия при ХААОО ускоряет развитие артериосклероза, а ускорение артериосклероза, в свою очередь, ускоряет трансплантационную артериопатию, граница между ними является эфемерной, и даже в разных сегментах одного сосуда можно наблюдать оба процесса. Поэтому доктор Hill предложил считать ускоренный после трансплантации артериосклероз формой трансплантационной артериопатии.

Michael Mengel подытожил результаты работы симпозиума по АОО. Для профилактики АОО необходимо выявление сенсibilизированных реципиентов, поскольку наличие антител к HLA достоверно повышает риск потери ПАТ. За последние годы чувствительность и специфичность методов детекции ДСА повысилась [9, 10, 48], но «хромает» стандартизация. Среди них «лидирует» технология Luminex [10], которая позволяет более полно оценивать активность анти-HLA-антител, их кли-

нический эффект, силу и специфичность и разработать протоколы пересадки при наличии у реципиента ДСА (десенсибилизация и обмен почками между несовместимыми парами).

Тем не менее ОАОО остается серьезной проблемой, поскольку его частота составляет 20–50% при наличии ДСА. Хотя терапия, направленная на снижение активности ДСА, может привести к обратному развитию проявлений ОАОО, оно, тем не менее, имеет негативное влияние на выживание ПАТ. Кроме того, субклиническое ОАОО, которое часто наблюдается при кросс-матч-позитивной трансплантации, также ведет к хроническим гистологическим изменениям в ПАТ и сокращает его жизнь [17].

Перспективным методом профилактики и лечения АОО является применение ингибитора протеасом бортезомиба, который индуцирует апоптоз плазматиков [25]. Профилактическое назначение бортезомиба снижает частоту ОАОО. При терапии раннего ОАОО бортезомиб достоверно снижает уровень ДСА, улучшает структуру и функцию ПАТ; при позднем ОАОО степень резистентности к препарату выше [35, 45, 46].

Ингибирование терминальных звеньев активации системы комплемента с помощью гуманизованного анти-C5-антитела экулизумаба позволяет снизить частоту АОО при позитивном кросс-матче (7,7 против 41,2%). В одногодичных протокольных биопсиях частота ТГ у пациентов, получавших эклизумаб, составляла 6,7 против 35,7% [42, 47].

Широко признано существование С4d-негативного АОО, и разрабатываются его диагностические критерии.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАТОЛОГИЯ

Задачей развиваемого лабораторией Halloran P.F. (Канада) направления является создание интегральной системы молекулярных находок, имеющих отношение к гистологии ПАТ. Банфф-классификация описывает гистологические изменения в ПАТ, но не учитывает их взаимоотношения друг с другом и лежащие в основе повреждений биологические процессы. Патологические изменения в ПАТ относятся к различным группам патогенетических механизмов, что можно выявить при проведении кластерного анализа: 1) изменения микроциркуляции, в том числе воспаление (гломерулит, капиллярит) и деградация (двойные контуры ГК, экспансия мезангия); 2) рубцевание/гиалиноз; 3) тубулоинтерстициальное воспаление.

Применение методики *microarray* («молекулярный микроскоп») для изучения биоптатов ПАТ дает возможность определить молекулярный фенотип процесса и интегрировать молекулярный диагноз в Банфф-классификацию. Интеграция гисто-

логического и молекулярного фенотипов позволит не только поставить диагноз, но и определиться с активностью процесса, стадией, прогнозом и предполагаемым ответом на терапию (тераностика), что лучше удовлетворит запросы нефрологов [14].

Благодаря проделанной его коллективом работе выделены наборы патогенетически-обусловленных транскриптов, характеризующих состояние ЭК, работу канальцевых транспортеров, присутствие и активность в ПАТ цитотоксических Т-лимфоцитов, макрофагов, эффекты IFN- $\gamma$ , процессы деления клеток и апоптоза.

Результаты показали, что изменения одиночных молекул и патогенетически обоснованных наборов транскриптов отражают крупномасштабные координированные нарушения, стереотипные при различных заболеваниях и повреждениях. Тем не менее количественные изменения экспрессии молекул и их наборов специфичны. Еще до морфологических проявлений увеличивается экспрессия генов, участвующих в процессах деления клеток и апоптоза, и подавляется экспрессия генов дифференцированного эпителия. При отторжении выявляются транскрипты эффектов IFN- $\gamma$ ; при ОТОО – транскрипты Т-клеток и макрофагов; при АОО – транскрипты эндотелия и НК-клеток. Гены, связанные с несостоятельностью ПАТ, прежде всего имели отношение к острому повреждению ткани, дедифференцировке эпителия, ремоделированию матрикса и эффектам TGF- $\beta$ , однако у них было мало общего с генами, связанными с отторжением. На основании полученных данных для каждого пациента можно рассчитать молекулярный индекс риска потери ПАТ. Этот индекс коррелирует с ИФ, КА, тубулитом, интерстициальным воспалением, протеинурией и СКФ. При многофакторном анализе молекулярный индекс риска, многослоистость базальной мембраны ПТК, гиалиноз артериол и протеинурия были независимыми предикторами потери трансплантата.

Молекулярный фенотип лучше всего описывается в терминах трех элементов: 1) специфические заболевания, 2) повреждение и активный ответ на него, 3) суммарный эффект повреждений [19, 40]. Транскрипты, характеризующие регенеративный ответ на повреждение, являются лучшими коррелятами функциональных нарушений и риска потери трансплантата в будущем. Установлено, что при воспалении в ПАТ увеличивается содержание транскриптов цитотоксических Т-лимфоцитов, макрофагов, эффектов IFN- $\gamma$ . При повреждении и репарации снижается содержание транскриптов транспортеров. Максимум нарушений имеет место при ОТОО. Когда повреждение активно, увеличивается содержание транскриптов, характерных для деления и апоптоза клеток. Когда оно угасает – увеличивается содержание транскриптов дедифференцировки.



В поздних биопсиях с ИФ/КА, фиброзирующим утолщением интимы артерий и гиалинозом артериол, что отражает суммарный эффект повреждений, увеличивается содержание транскриптов В-лимфоцитов, плазматических и тучных клеток. Однако эти изменения не прогрессируют без продолжающегося заболевания или повреждения.

Banu Sis посвятила доклад молекулярной диагностики АОО. Она обратила внимание на ограниченные возможности гистологических и серологических исследований в оценке активности АОО. Например, установлено, что при ОАОО С4d-депозиты могут быть фокальными или вовсе отсутствовать. ДСА являются плохими индикаторами для постановки диагноза и предикторами прогноза. Применение *microarray*-методики в таких случаях позволяет выявить увеличение содержания в ПАТ транскриптов эндотелиальных, НК-клеток и моноцитов и диагностировать С4d-негативные случаи.

Для АОО характерно повышение транскриптов эндотелиальных транспортеров (ENDAT), IFN- $\gamma$ , макрофагов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Выживание ПАТ при наличии ТГ в биоптатах наилучшее, если ENDAT не определяются, хуже при наличии ENDAT, но отсутствии С4d, и еще хуже при ENDAT- и С4d-позитивности. В прогнозировании развития АОО может помочь выявление в ПАТ следующих транскриптов: кадгерин 5 (CDH5), фактор фон Виллебранда (VWF), рецептор хемокинов DARC, молекула клеточной адгезии тромбоцитов/эндотелия Pecam 1.

В своем докладе Guinilla Einecke (Германия) остановилась на молекулярных механизмах утраты нефронов. Ответом ткани на повреждение является потеря переносчиков растворенных в моче веществ и экспрессия транскриптов, относящихся к процессам повреждения/восстановления. Потеря транспортеров начинается с 1-го дня после пересадки: она коррелирует со степенью тубулита и может быть признаком ранней стадии ОТОО [13]. Повреждению ЭК-каналцев предшествует увеличение содержания в биоптате транскриптов моноцитов/макрофагов, Т-лимфоцитов и признаки нарушения микроциркуляции. Изменения транскриптов в 0-биопсиях коррелируют с риском отсроченной функции, тогда как изменения транскриптов в поздних биопсиях позволяют идентифицировать пациентов с высоким молекулярным риском потери ПАТ.

Последовательность событий, ведущих к потере нефронов, можно представить следующим образом. Вслед за повреждением эпителия в перитрансплантационном периоде следует гомеостатическая попытка восстановления повреждения в виде избыточной регенерации. На данном этапе повреждения потенциально обратимы. При неудаче репарации

(если персистирует причина) со временем снижается количество нефронов [18].

Luis Hidalgo (Канада) доложил об изменениях в ПАТ, инициированных *de novo* ДСА-антителами. В биоптатах пациентов с ОАОО изменяется экспрессия 132 транскриптов, все из которых ассоциированы с ДСА 2-го класса. Отмечено избирательное усиление экспрессии транскриптов НК-клеток и эндотелия. Под влиянием секретируемого НК-клетками IFN- $\gamma$  увеличивается экспрессия HLA-молекул эндотелиальными клетками, они активируются и пролиферируют [22]. Гистологически с *de novo* ДСА ассоциированы воспаление (гломерулит и капиллярит) и повреждение (ТГ, многослойность базальной мембраны капилляров, С4d-позитивность) МЦР, но не степень ИФ, артериального фиброза и тубулоинтерстициального воспаления. *De novo* ДСА коррелируют со снижением выживания ПАТ после биопсии [21].

## ПРОТОКОЛЬНЫЕ БИОПСИИ

Доклад Brian Nankivell был посвящен обзору изменений в протокольных биопсиях на фоне современной иммуносупрессивной терапии и сравнению эффективности ЦсА и такролимуса в плане предотвращения морфологических изменений в ПАТ. При приеме такролимуса по сравнению с ЦсА тубулит и интерстициальное воспаление выражены в меньшей степени, но только в течение года после трансплантации. В последующие годы выбор препарата не влияет на индекс «i», а «t» меньше у пациентов, получающих ЦсА. Степени ИФ, ИФ в сочетании с воспалением, ТГ, увеличения мезангиального матрикса, гломерулосклероза выше у пациентов, получающих ЦсА. Закономерно функция ПАТ лучше у пациентов, получающих такролимус. Артериологиалиноз приобретает важность с 5-го года после пересадки. Помимо совершенствования иммуносупрессивной терапии причинами улучшения функции ПАТ являются тщательное выявление ДСА, диагностика и лечение ЦМВ-инфекции.

Verena Brocker (Германия) доложила о 10-летнем опыте работы по исследованию протокольных биопсий. При изучении 6-недельных, 3- и 6-месячных протокольных биопсий наиболее частой находкой были субклинические пограничные изменения. При обнаружении в протокольных биопсиях капиллярита ПТК в сочетании с гломерулитом затем в 30% случаев развивалась ТГ, и 28% пациентов потеряли ПАТ через 2 года, тогда как при изолированном гломерулите – только в 10%, а ПАТ потеряли 5% пациентов. При наличии инфильтратов в зонах ИФ/КА (даже не отвечающих критериям отторжения) развитие дисфункции ускоряется. Однако на сегодня целесообразность включения в классификацию «ми-

норных или неспецифических» клеточных инфильтратов и их интерпретация остаются неясными, поскольку их частота в протокольных биопсиях и биопсиях по показаниям не отличается. Установлено, что единственным предиктором функции ПАТ является персистирующее воспаление в последовательных биопсиях вне зависимости от типа, локализации и состава инфильтрата, что указывает на продолжающееся повреждение аллографта. Таким образом, по ее мнению, в Банфф-классификации следует учитывать любые инфильтраты [32].

Результаты исследования 1- и 5-летних протокольных биопсий показали, что в последние годы в срок до 5 лет отмечаются более редкие и менее тяжелые и прогрессирующие хронические морфологические изменения в ПАТ, о чем сообщалось ранее. Они выражены в легкой степени как в 1 год, так и в 5 лет. Умеренно-тяжелый ИФ присутствует в 13% биоптатов в 1 год и в 17% – в 5 лет. Только у 23% пациентов легкий ИФ в 1 год прогрессировал в умеренно-тяжелый в 5 лет [41].

Daniel Seron (Испания) сообщил о негативных последствиях сочетания в биоптате воспаления и ИФ. Выживаемость ПАТ снижается при наличии в биоптатах и воспалительных изменений, и ИФ (которым заканчивается воспаление), но при сочетании воспаления с ИФ прогноз ухудшается в еще большей степени [34]. Иммунофенотипирование этих биоптатов показало, что среди CD3-, CD20-, CD45-, CD68-позитивных лейкоцитов только увеличение количества CD20+ В-лимфоцитов в инфильтрате негативно влияло на выживание ПАТ.

Большое внимание коллектив доктора D. Seron уделяет установлению прогностического значения субклинических изменений в графте, поскольку, по имеющимся данным, субклиническое отторжение влечет за собой значительное тубулоинтерстициальное повреждение с последующим ИФ и КА [24]. Частота субклинического острого отторжения составляет 60,8; 45,7; 25,8 и 17,7% через 1, 3, 12 и более 12 месяцев после трансплантации соответственно. Комбинация такролимуса и ММФ более эффективно предотвращает субклиническое отторжение.

Michael Mengel посвятил свой доклад обзору молекулярных фенотипов 6-недельных протокольных биопсий. Находки в них позволяют осуществить раннюю интервенцию. Среди субклинических процессов 1/3 составляют пограничные изменения и ОТОО, 2/3 – другие формы воспаления. Изменения транскрипции генов были классифицированы на неперекрывающиеся патогенетически обоснованные наборы транскриптов, отражающих воспаление в ПАТ, продолжающееся активное повреждение, репаративный ответ на повреждение паренхимы, стромы и микроциркуляции, угасание повреждения. Содержание транскриптов активного

повреждения (но не гистологические изменения) коррелировало с функцией ПАТ. Выявление в ПАТ транскриптов угасающего повреждения и воспаления коррелировало с гистологическими признаками воспаления в интерстиции и канальцах, причем больше воспалительных транскриптов обнаруживалось при ОТОО или пограничных изменениях. Эти изменения скорее отражают репаративный ответ на повреждение при имплантации почки [33]. Отмечено, что молекулярные изменения не позволяли предсказать потребность в биопсии по клиническим показаниям, функциональный износ или потерю ПАТ в будущем.

## НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА

David Rush (США) провел обзор методов неинвазивной диагностики патологии ПАТ. Предпочтительно определение гранзима А (а не гранзима В) в моче для диагностики субклинического отторжения. Содержание мРНК гранзима В и перфорина достоверно выше при клинически значимом отторжении, чем у пациентов с ОКН или стабильной функцией ПАТ, но не повышается при субклиническом отторжении [43].

Наши данные свидетельствуют, что определение в крови в раннем посттрансплантационном периоде sCD30 и IP10 позволяет предсказать развитие острого отторжения [4, 5]. В моче также можно выявлять IP10, CXCL 4, 9, 11, NGAL, альфа1-микроглобулин. Уровень IP10 в моче повышается при клиническом тубулите [37].

Sophie Brouard из университета г. Нанта (Франция) посвятила свой доклад В-клеточной толерантности, которая остается малоизученной, в отличие от центральной роли регуляторных Т-лимфоцитов. При толерантности в графтах увеличивается содержание специфичных для В-лимфоцитов мРНК CD79 и CD19, а в периферической циркуляции увеличивается абсолютное количество В-клеток памяти и экспрессирующих маркеры активации (CD40, CD86) CD20+ В-лимфоцитов [30].

## ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОЕ ПРЕВРАЩЕНИЕ (ЭМП)

Одно из пленарных заседаний называлось: «Роль паренхимы в ухудшении функции аллотрансплантата», на котором обсуждалась роль ЭМП в патологии трансплантатов. ЭМП – это биологический процесс, в ходе которого ЭК дедифференцируются, а затем приобретают фенотип мезенхимальных клеток, а именно: расширение миграционного потенциала, инвазивность, повышенную устойчивость к апоптозу и значительно увеличенное производство компонентов внеклеточного матрикса.

Alexandre Hertig (Франция) высказался в пользу этой концепции. По его данным, повреждение ПАТ ведет к гибели части клеток тубулярного эпителия путем апоптоза [16]. Другие эпителиоциты теряют присущую им ориентацию, в частности бета-катенин, который в норме фиксирует клетку к базальной мембране, мигрирует в цитоплазму. Эпителиальные клетки канальцев начинают экспрессировать мезенхимальные маркеры: виментин, альфа-актин, S100A4 [20], утрачивают адгезию, превращаются в миофибробласты интерстиция и начинают миграцию через внеклеточный матрикс [44], секретировав матриксные белки и инициируя ИФ [26, 49].

Виментин и транслокация бета-катенина, по мнению А. Hertig, – это два лучших маркера, позволяющих предсказать развитие ИФ/КА, функцию ПАТ и исход трансплантации. Их раннее выявление в биоптатах может служить индикатором необходимости конверсии иммуносупрессии.

Hermann-Josef Grone (Германия) выступил с докладом, в котором отрицалось существование ЭМП. В пользу этого говорят результаты работы [29], в которой не выявлена миграция ЭК-канальцев в интерстиций. Напротив, доказано, что миофибробласты интерстиция образуются из резидентных фибробластов и моноцитов крови. На сегодняшний день отсутствуют понятные данные об ЭМП в других органах.

В результате дискуссии наибольшую поддержку получило мнение, что ЭМП не существует, поскольку не получены убедительные доказательства миграции ЭК через базальную мембрану и продукции соединительной ткани в интерстиции трансплантата. Однако *in situ* ЭК дедифференцируются, принимают эмбриональный и мезенхимальный фенотип, продуцируют TGF- $\beta$  как результат повреждения и попытки регенерации. В ходе постконгрессной интернет-дискуссии производился поиск наиболее подходящего термина (эпителиально-мезенхимальная метаплазия, эпителиально-мезенхимальная трансдифференцировка, эпителиальная дедифференцировка, регенеративный ответ эпителия на повреждение).

Окончательные решения о модификации классификации будут приняты и опубликованы позже.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Трайлин А.В., Никоненко Т.Н., Остапенко Т.И. и др. Исходное состояние донорской почки и риск развития отсроченной и замедленной функции почечного аллотрансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008. Т. 41. № 3. С. 13–18.
2. Трайлин А.В., Никоненко Т.Н., Остапенко Т.И. и др. Морфологические и иммуногистохимические проявления различных форм острого отторжения почечного аллотрансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. Т. 11. № 2. С. 29–36.
3. Трайлин А.В., Никоненко Т.М. Спосіб визначення ступеня хронічної недостатності ниркового алотрансплантата Пат. 46208 Україна, МПК G01N 33/50. Заявник і патентовласник Запорізька медична академія післядипломної освіти. – № у 2009 06739. Заявл. 26.06.09. Опубл. 10.12.09. Бюл. № 23.
4. Трайлин А.В. Оценка концентрации в сыворотке растворимого CD30 в диагностике ранней дисфункции почечного аллотрансплантата // Клінічна хірургія. 2009. № 10. С. 44–46.
5. Трайлин А.В., Никоненко А.С., Никоненко Т.Н. и др. Оценка риска развития острой реакции отторжения почечного аллотрансплантата путем определения сывороточной концентрации IP10 // Медицина сегодня и завтра. 2011. № 1–2. С. 263–265.
6. Anglicheau D., Loupy A., Lefaucheur C. et al. A simple clinico-histopathological composite scoring system is highly predictive of graft outcomes in marginal donors // Am. J. Transplant. 2008. Vol. 8. P. 2325–2334.
7. Batal I., Lunz J.G. 3rd, Aggarwal N. et al. A critical appraisal of methods to grade transplant glomerulitis in renal allograft biopsies // Am. J. Transplant. 2010. Vol. 10. P. 2442–2452.
8. Batal I., Azzi J., El-Haddad N. et al. Immunohistochemical markers of tissue injury in biopsies with transplant glomerulitis. Hum Pathol. 2011.
9. Bray R.A., Nickerson P.W., Kerman R.H., Gebel H.M. Evolution of HLA antibody detection: technology emulating biology // Immunol. Res. 2004. Vol. 29. P. 41–54.
10. Bray R.A., Tarsitani C., Gebel H.M., Lee J.H. Clinical cytometry and progress in HLA antibody detection // Methods Cell. Biol. 2011. Vol. 103. P. 285–310.
11. De Serres S.A., Vadivel N., Mfarrej B.G. et al. Monocyte-secreted inflammatory cytokines are associated with transplant glomerulopathy in renal allograft recipients // Transplantation. 2011. Vol. 15. P. 552–559.
12. Drachenberg C.B., Papadimitriou J.C., Hirsch H.H. et al. Histological Patterns of Polyomavirus Nephropathy: Correlation with Graft Outcome and Viral Load // Am. J. Transplant. 2004. Vol. 4. P. 2082–2092.
13. Einecke G., Broderick G., Sis B., Halloran P.F. Early Loss of Renal Transcripts in Kidney Allografts: Relationship to the Development of Histologic Lesions and Alloimmune Effector Mechanisms // Am. J. Transplant. 2007. Vol. 7. P. 1121–1130.
14. Einecke G., Reeve J., Sis B. et al. A molecular classifier for predicting future graft loss in late kidney transplant biopsies // J. Clin. Invest. 2010. Vol. 120. P. 1862–1872.
15. Farris A.B., Adams C.D., Broussard N. et al. Morphometric and visual evaluation of fibrosis in renal biopsies // J. Am. Soc. Nephrol. 2011. Vol. 22. P. 176–186.
16. Frisch S.M. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis // J. Cell Biol. 1994. Vol. 124. P. 619–626.
17. Gloor J., Stegall M.D. Sensitized renal transplant recipients: current protocols and future directions // Nat. Rev. Nephrol. 2010. Vol. 6. P. 297–306.
18. Halloran P.F., de Freitas D.G., Einecke G. et al. An integrated view of molecular changes, histopathology and outcomes in kidney transplants // Am. J. Transplant. 2010. Vol. 10. P. 2223–2230.

19. *Halloran P.F., de Freitas D.G., Einecke G. et al.* The molecular phenotype of kidney transplants // *Am. J. Transplant.* 2010. Vol. 10. P. 2215–2222.
20. *Hertig A., Anglicheau D., Verine J. et al.* Early Epithelial Phenotypic Changes Predict Graft Fibrosis // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 19. P. 1584–1591.
21. *Hidalgo L.G., Campbell P.M., Sis B. et al.* De Novo Donor-Specific Antibody at the Time of Kidney Transplant Biopsy Associates with Microvascular Pathology and Late Graft Failure // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9. P. 2532–2541.
22. *Hidalgo L.G., Sis B., Sellares J. et al.* NK cell transcripts and NK cells in kidney biopsies from patients with donor-specific antibodies: evidence for NK cell involvement in antibody-mediated rejection // *Am. J. Transplant.* 2010. Vol. 10. P. 1812–1822.
23. *Hill G.S., Nochy D., Bruneval P. et al.* Donor-Specific Antibodies Accelerate Arteriosclerosis after Kidney Transplantation // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2011. Vol. 22. P. 975–983.
24. *Ibernón M., Gomá M., Moreso F. et al.* Subclinical rejection impairs glomerular adaptation after renal transplantation // *Kidney Int.* 2006. Vol. 70. P. 557–561.
25. *Jordan S.C., Reinsmoen N., Peng A. et al.* Advances in diagnosing and managing antibody-mediated rejection // *Pediatr. Nephrol.* 2010. Vol. 25. P. 2035–2048.
26. *Kalluri R. and Weinberg R.A.* The basics of epithelial-mesenchymal transition // *J. Clin. Invest.* 2009. Vol. 119. P. 1420–1428.
27. *Kayler L.K., Mohanka R., Basu A. et al.* Correlation of histologic findings on preimplant biopsy with kidney graft survival // *Transpl. Int.* 2008. Vol. 21. P. 892–908.
28. *Lefaucheur C., Loupy A., Hill G.S. et al.* Preexisting Donor-Specific HLA Antibodies Predict Outcome in Kidney Transplantation // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010. Vol. 21. P. 1398–1406.
29. *Le Hir M., Hegyi I., Cueni-Loffing D. et al.* Characterization of renal interstitial fibroblast-specific protein 1/S100A4-positive cells in healthy and inflamed rodent kidneys // *Histochem. Cell. Biol.* 2005. Vol. 123. P. 335–346.
30. *Le Texier L., Thebault P., Lavault A. et al.* Long-term allograft tolerance is characterized by the accumulation of B cells exhibiting an inhibited profile // *Am. J. Transplant.* 2011. Vol. 11. P. 429–438.
31. *Loupy A., Suberbielle-Boissel C., Hill G.S. et al.* Outcome of Subclinical Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplant Recipients with Preformed Donor-Specific Antibodies // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9. P. 2561–2570.
32. *Mengel M., Gwinner W., Schwarz A. et al.* Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts // *Am. J. Transplant.* 2007. Vol. 7. P. 356–365.
33. *Mengel M., Chang J., Kayser D. et al.* The molecular phenotype of 6-week protocol biopsies from human renal allografts: reflections of prior injury but not future course // *Am. J. Transplant.* 2011. Vol. 11. P. 708–718.
34. *Moreso F., Ibernón M., Gomá M. et al.* Subclinical Rejection Associated with Chronic Allograft Nephropathy in Protocol Biopsies as a Risk Factor for Late Graft Loss // *Am. J. Transplant.* 2006. Vol. 6. P. 747–752.
35. *Sadaka B., Alloway R.R., Woodle E.S.* Clinical and investigational use of proteasome inhibitors for transplant rejection // *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2011. Vol. 20. P. 1535–1542.
36. *Servais A., Meas-Yedid V., Noël L.H. et al.* Interstitial Fibrosis Evolution on Early Sequential Screening Renal Allograft Biopsies Using Quantitative Image Analysis // *Am. J. Transplant.* 2011. Vol. 11. P. 1456–1463.
37. *Schaub S., Nickerson P., Rush D. et al.* Urinary CXCL9 and CXCL10 levels correlate with the extent of subclinical tubulitis // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9. P. 1347–1353.
38. *Singh H.K., Andreoni K.A., Madden V. et al.* Presence of Urinary Haufen Accurately Predicts Polyomavirus Nephropathy // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. Vol. 20. P. 416–427.
39. *Sis B., Mengel M., Haas M. et al.* Banff '09 Meeting Report: Antibody Mediated Graft Deterioration and Implementation of Banff Working Groups // *Am. J. Transplant.* 2010. Vol. 10. P. 464–471.
40. *Sis B., Einecke G., Chang J. et al.* Cluster analysis of lesions in nonselected kidney transplant biopsies: microcirculation changes, tubulointerstitial inflammation and scarring // *Am. J. Transplant.* 2010. Vol. 10. P. 421–430.
41. *Stegall M.D., Park W.D., Larson T.S. et al.* The histology of solitary renal allografts at 1 and 5 years after transplantation // *Am. J. Transplant.* 2011. Vol. 11. P. 698–707.
42. *Stegall M.D., Diwan T., Raghavaiah S. et al.* Terminal Complement Inhibition Decreases Antibody-Mediated Rejection in Sensitized Renal Transplant Recipients // *Am. J. Transplant.* 2011. Vol. 11. P. 2405–2413.
43. *Van Ham S.M., Heutinck K.M., Jorritsma T. et al.* Urinary granzyme A mRNA is a biomarker to diagnose subclinical and acute cellular rejection in kidney transplant recipients // *Kidney Int.* 2010. Vol. 78. P. 1033–1040.
44. *Vongwiwatana A., Tasanarong A., Rayner D.C. et al.* Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants: the role of tubular cells in fibrogenesis // *Am. J. Transplant.* 2005. Vol. 5. P. 1367–1374.
45. *Walsh R.C., Everly J.J., Brailey P. et al.* Proteasome inhibitor-based primary therapy for antibody-mediated renal allograft rejection // *Transplantation.* 2010. Vol. 89. P. 277–284.
46. *Walsh R.C., Brailey P., Girmita A. et al.* Early and late acute antibody-mediated rejection differ immunologically and in response to proteasome inhibition // *Transplantation.* 2011. Vol. 91. P. 1218–1226.
47. *Wang H., Rollins S.A., Gao Z. et al.* Complement inhibition with an anti-C5 monoclonal antibody prevents hyperacute rejection in a xenograft heart transplantation model // *Transplantation.* 1999. Vol. 68. P. 1643–1651.
48. *Ward W.W.* Biochemical and physical properties of green fluorescent protein // *Methods Biochem. Anal.* 2006. Vol. 47. P. 39–65.
49. *Yang J., Liu Y.* Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis // *Am. J. Pathol.* 2001. Vol. 159. P. 1465–1475.
50. *Yushkov Y., Dikman S., Alvarez-Casas J. et al.* Optimized technique in needle biopsy protocol shown to be of greater sensitivity and accuracy compared to wedge biopsy // *Transplant Proc.* 2010. Vol. 42. P. 2493–2497.



**ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ  
ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАНСПЛАНТОЛОГОВ  
«РОССИЙСКОЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКОЕ  
ОБЩЕСТВО»**

123182 г. Москва  
ул. Щукинская, д. 1

Тел. (499) 193-87-62  
E-mail: transplant2009@mail.ru

Уважаемый(ая) коллега!

Приглашаем Вас принять участие в работе **VI Всероссийского съезда трансплантологов**, который состоится **24–27 сентября 2012 года в ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова»** Минздравсоцразвития России по адресу: г. Москва, ул. Щукинская, д. 1.

Научная программа съезда:

1. Клиническая трансплантация органов.
2. Правовые и организационные аспекты органного донорства.
3. Биомаркеры и регуляторные механизмы в трансплантологии.
4. Актуальные вопросы сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии.
5. Системы вспомогательного кровообращения и искусственное сердце.
6. Биоискусственные системы и клеточные технологии.

Тезисы будут опубликованы в приложении к журналу «Вестник трансплантологии и искусственных органов».

**Заявки** на участие в работе съезда (*указать: Ф.И.О.; учреждение; должность; ученую степень; ученое звание; контакты – телефон, электронный адрес, почтовый адрес, факс; необходимость бронирования гостиницы*) и **текст тезисов** необходимо выслать до **30 апреля 2012 г.** по электронной почте [transplantology@mail.ru](mailto:transplantology@mail.ru).

Тезисы должны быть представлены текстом в объеме 1 страницы формата А4 с полями 3 см с каждой стороны, через 1 интервал шрифтом Times New Roman, размер 12. Название тезисов – заглавными буквами жирным шрифтом; авторы (инициалы после фамилий) – строчными буквами жирным шрифтом; название учреждения, город – строчными буквами обычным шрифтом; между названием учреждения и текстом тезисов – 2 интервала.

*Образец оформления тезисов*

**ПРИМЕНЕНИЕ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ ПРИ ЗАБОРЕ ПОЧКИ  
У РОДСТВЕННОГО ДОНОРА**

**Сидоров В.Г., Петров Д.Е., Иванов А.Б.**

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

Лечение больных с терминальной ХПН является .....

Оперативная информация о подготовке к VI Всероссийскому съезду трансплантологов будет размещена на сайте [www.transpl.ru](http://www.transpl.ru).

Председатель Российского трансплантологического общества,  
главный специалист трансплантолог Минздравсоцразвития России,  
академик РАМН

С.В. Готьё



## ПОЗДРАВЛЯЕМ ОЛЬГУ ПАВЛОВНУ ШЕВЧЕНКО

14 января 2012 года отметила юбилей талантливый организатор и руководитель, высококвалифицированный специалист, доктор медицинских наук, профессор Ольга Павловна Шевченко.

О.П. Шевченко родилась в г. Спасске-Дальнем Приморского края в семье военнослужащего. Сразу после окончания школы, в 1969 году, она поступила во 2-й Московский ордена Ленина государственный медицинский институт им. Н.И. Пирогова. С отличием завершив обучение по специальности «педиатрия» в 1975 году, Ольга Павловна продолжила образование в аспирантуре на кафедре биохимии 2-го МОЛГМИ и в 1978 году защитила кандидатскую диссертацию «Иммунохимическое и физико-химическое изучение аналогов трофобластического бета-глобулина».

Обучаясь и работая под руководством заслуженного деятеля науки, лауреата Государственных премий СССР и РФ, профессора Ю.С. Татарнинова, О.П. Шевченко участвовала в разработке и внедрении в отечественное здравоохранение иммунохимических методов исследования, ставших неотъемлемой частью современной медицинской науки и практики; в исследованиях раково-эмбриональных и плацентарных белков, широко используемых в современной клинике для диагностики онкологических заболеваний, патологии беременности.

С 1983 года О.П. Шевченко работает в НИИ трансплантологии в должности старшего научного сотрудника, заведующей лабораторией клинической и экспериментальной биохимии. В 1990 году Ольга Павловна защитила докторскую диссертацию на тему «Специфические белки гранулоцитов при искусственном кровообращении и экстракорпоральном очищении крови». В 1993 году ей было присвоено ученое звание профессора. Ольга Павловна внесла существенный вклад в развитие науки, разработку фундаментальных и прикладных аспектов трансплантологии и искусственных органов, клинической лабораторной диагностики. Ею разработаны принципиально новые методы прогнозирования, диагностики, оценки риска осложнений у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, реципиентов солидных органов, основанные на использовании новых лабораторных биомаркеров.

Профессор О.П. Шевченко – автор более 350 научных работ, 15 авторских свидетельств и патентов на изобретения, 11 книг, монографий и руководств по трансплантологии и клинической лабораторной диагностике. Ольга Павловна успешно передает свой богатый опыт: уже с самого начала своей трудовой деятельности она сочетала научную и педагогическую работу, занимаясь воспитанием и подготовкой врачей и научных кадров в качестве ассистента кафедры биохимии (1978–1983), профессора кафедры клинической лабораторной диагностики Российского государственного медицинского университета (1991–1993), профессора кафедры иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования (1996–2002); под ее руководством защищены 2 докторские и 14 кандидатских диссертаций.

С 2008 года профессор О.П. Шевченко является заместителем директора по научной работе Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова Минздрава России. Она ведет большую организационную и общественную работу, являясь заместителем председателя Научного совета по трансплантологии и искусственным органам РАМН и Минздрава России, ученым секретарем диссертационного совета при Центре трансплантологии, членом диссертационного совета при Российской медицинской академии последипломного образования, членом координационного совета Российского трансплантологического общества, заместителем главного редактора журнала «Лаборатория», членом редколлегии журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов».

Неиссякаемая энергия, профессионализм, трудолюбие, блестящий организаторский талант, необыкновенная требовательность к себе – вот лишь немногие отличительные черты Ольги Павловны Шевченко.

Сотрудники, ученики, коллектив редколлегии журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» во главе с главным редактором академиком РАМН, профессором С.В. Готьё поздравляют Ольгу Павловну с юбилеем и желают ей крепкого здоровья, оптимизма, бодрости духа, творческих успехов и долгих лет жизни.



## ПОЗДРАВЛЯЕМ ВЛАДИМИРА АЛЕКСАНДРОВИЧА ВИШНЕВСКОГО

7 февраля 2012 г. исполнилось 75 лет известному хирургу, одному из основоположников отечественной хирургической гепатологии и панкреатологии, профессору Владимиру Александровичу Вишневному. В 1960 г. Владимир Александрович с отличием окончил Киевский медицинский институт и профессиональное становление хирурга прошел в медсанчасти угольной шахты, а затем – в центральной больнице г. Ровеньки Луганской области.

В 1966 г. поступил в аспирантуру Института хирургии им. А.В. Вишневного. В Институте хирургии трудовая и научная деятельность Владимира Александровича была связана с хирургическим лечением заболеваний желчевыводящих протоков и очаговых поражений печени. По окончании аспирантуры в 1969 г. В.А. Вишневному защитил кандидатскую диссертацию на тему «Желчеотводящие анастомозы в хирургии воспалительных заболеваний желчных путей» и продолжил работу в Институте хирургии в должности младшего, а затем старшего и ведущего научного сотрудника отдела абдоминальной хирургии. В 1991 г. Владимир Александрович защитил докторскую диссертацию «Совершенствование методов хирургического лечения очаговых образований печени» и в том же году возглавил в Институте отделение хирургии печени и поджелудочной железы, руководителем которого он является до настоящего времени.

С научно-практической и организационной деятельностью В.А. Вишневного связано формирование современной идеологии в отечественной хирургии первичных и метастатических поражений печени, опухолей ворот и паразитарных поражений печени и, по существу, создание одного из ведущих центров хирургической гепатологии в нашей стране.

Под руководством В.А. Вишневного успешно разрабатывались и внедрялись прогрессивные методы хирургического лечения заболеваний поджелудочной железы. Он одним из первых в России накопил большой опыт панкреатодуоденальных резекций и других видов вмешательств на поджелудочной железе. Впервые в стране В.А. Вишневым выполнена панкреатэктомия.

В.А. Вишневному является автором более 600 научных работ, а также 6 монографий и руководств, в том числе: «Послеоперационные заболевания желчных путей», «Доброкачественные опухоли печени», «Рак поджелудочной железы», «Операции на печени» и др. Под его руководством защищены 8 докторских и 14 кандидатских диссертаций. За выдающиеся заслуги в развитии отечественной науки, подготовку высококвалифицированных врачебных и научных кадров профессор В.А. Вишневному награжден орденом «Знак Почета» и орденом Почета, медалями. Владимир Александрович является лауреатом Государственной премии РФ, премии Правительства РФ.

Признанием авторитета В.А. Вишневного среди коллег явилось избрание его в 2003 г. президентом Ассоциации хирургов-гепатологов России и стран СНГ. Профессор В.А. Вишневному является заместителем главного редактора журнала «Анналы хирургической гепатологии», членом Международной и Европейской Ассоциации хирургов-гепатологов, членом редколлегии трех хирургических журналов, входит в состав проблемной комиссии «Хирургия органов брюшной полости», ученых советов ряда вузов. Длительное время профессор В.А. Вишневному является одним из признанных лидеров отечественной хирургической гепатологии. Его научная и практическая деятельность неразрывно связана со становлением этой отрасли хирургии не только в нашей стране, но и за рубежом. Владимир Александрович – почетный профессор и академик нескольких зарубежных академий и научных центров Казахстана, Узбекистана и Белоруссии, отмечен почетной наградой Международной Ассоциации хирургов, гастроэнтерологов и онкологов (IASGO) «За выдающийся вклад в области лечения заболеваний печени и хирургической гепатологии».

В 2005 г. за проведение уникальных операций профессор В.А. Вишневному был удостоен премии «Призвание».

Коллектив редакции журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» во главе с главным редактором академиком РАМН С.В. Готьё поздравляет Владимира Александровича с юбилеем и желает ему крепкого здоровья, неиссякаемой творческой энергии, долгих лет активной хирургической и педагогической жизни.



## ПОЗДРАВЛЯЕМ ЮРИЯ ПЕТРОВИЧА ОСТРОВСКОГО

6 января исполнилось 60 лет известному белорусскому кардиохирургу, доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту НАН Беларуси, главному внештатному кардиохирургу Министерства здравоохранения РБ Юрию Островскому.

Послужной список Юрия Петровича впечатляет. 35 лет в медицине, в том числе 33 – в кардиохирургии. Доктор медицинских наук – в 44 года, в 48 лет – профессор, в 55 – член-корреспондент НАН Беларуси. Оперирующий хирург, ученый, экспериментатор, педагог (инициатор создания и первый заведующий кафедрой кардиохирургии с курсом трансплантологии БелМАПО). И в каждой сфере – яркие заслуги.

Провел около 5 тысяч операций на открытом сердце и сосудах, многие из которых в республике выполнялись впервые: АКШ на работающем сердце, операции с использованием кровяной защиты миокарда, хирургическая коррекция при аневризмах грудной и торакоабдоминальной аорты, лазерная реваскуляризация сердца, подключение паракорпоральных систем вспомогательного кровообращения, имплантация искусственных желудочков сердца различных типов. И конечно, трансплантация сердца. Под руководством Юрия Островского в РНПЦ «Кардиология» выполнено 55 трансплантаций сердца.

За разработку одно- и двустворчатых искусственных клапанов «Планикс», которые на международной выставке «East-West Euro Intellect» (Будапешт, 1998 г.) завоевали золотую медаль, стал лауреатом Государственной премии Беларуси.

Фундаментальные исследования профессора Островского позволили изучить механизм защиты миокарда при операциях на сердце, обосновав технологии пересадки клеток миокарда в условиях эксперимента.

Во многом благодаря именно его усилиям сегодня в Беларуси выполняется фактически весь объем и спектр кардиохирургических вмешательств.

Многие разработки белорусского ученого имеют мировой приоритет, что подтверждено 12 патентами и авторскими свидетельствами на изобретения, им опубликовано 415 научных работ, из них 7 монографий. Монография «Хирургия сердца» стала настольной книгой для многих начинающих и опытных кардиохирургов.

Возглавив кафедру кардиохирургии БелМАПО в 2008 г., раздвинул границы высокотехнологичной специализированной кардиохирургической помощи: менее чем за 2 года во всех регионах Республики Беларусь по его инициативе и при его непосредственном участии организовано 6 самостоятельных кардиохирургических отделений, обучены областные специалисты – в РНПЦ «Кардиология» и на рабочих местах: во время выездных операций, которые профессор проводил и продолжает проводить лично.

2 доктора и 13 кандидатов медицинских наук, защитившие диссертации под руководством Юрия Островского, влились в белорусскую школу кардиохирургии.

Ю.П. Островский является членом Европейской ассоциации торакальных и сердечно-сосудистых хирургов, Европейской ассоциации сердечно-сосудистых хирургов, Европейского общества кардиологов, Российской ассоциации сердечно-сосудистых хирургов, Российского общества мини-инвазивных хирургов, членом Международного общества трансплантации сердца и легких.

За достижения и высокое мастерство в профессиональной деятельности Ю.П. Островский награжден орденом Почета, ему присвоено почетное звание «Заслуженный врач Республики Беларусь».

В течение последних лет его деятельность направлена на исследование и практическое применение таких направлений, как гибридная сердечно-сосудистая хирургия (гибридный метод лечения больных с расщепляющейся аневризмой аорты – тип А), малоинвазивная клапанная и коронарная хирургия. Разрабатываются способы хирургического лечения из мини-торакотомии.





## ПОЗДРАВЛЯЕМ ЭДУАРДА АБДУЛХАЕВИЧА ГАЛЛЯМОВА

Эдуард Абдулхаевич Галлямов родился 8 января 1962 г. в городе Стерлитамак Башкирской АССР. С первых курсов медицинского института проявил интерес к специальности «хирургия». В 1998 г. защитил кандидатскую диссертацию по теме «Диагностика и хирургическое лечение язвенной болезни 12-перстной кишки, осложненной хроническим холециститом».

В 2008 г. Эдуард Абдулхаевич защитил докторскую диссертацию по теме «Проблема совершенствования и внедрения высоких технологий эндохирургических вмешательств в клиническую практику» под руководством профессора Луцевича Олега Эммануиловича. С 2010 г. работает в должности профессора кафедры факультетской хирургии № 1 МГМСУ, главный хирург ГУП «Медицинский центр Управления делами Мэра и Правительства Москвы».

Приоритетным направлением хирургической и научной деятельности является лапароскопическая хирургия. Он владеет широким спектром открытых и эндохирургических вмешательств: хирургия пищевода, желудка, поджелудочной железы, толстой кишки; урологические и гинекологические лапароскопические операции в полном спектре.

Эдуард Абдулхаевич является автором более 15 патентов и изобретений в области эндохирургии, более 200 научных публикаций. Впервые в России выполнил лапароскопическую гастрэктомия с лимфаденэктомией и эзофагоэнтероанастомозом полностью интракорпоральным швом, резекцию почки в условиях тепловой ишемии, мануально-ассистированную (гибридную) родственную нефрэктомия, лапароскопические мануально-ассистированные (гибридные) вмешательства при панкреонекрозе, лапароскопические мануально-ассистированные (гибридные) гастрэктомии, субтотальные резекции при раке желудка, лапароскопическую позадилонную аденомэктомию.

С именем профессора Галлямова Э.А. связано внедрение с 2009 г. в повседневную практику ФНЦ трансплантологии и искусственных органов методики мануально-ассистированной лапароскопической нефрэктомии у живого родственного донора почки. К настоящему моменту выполнено уже более 100 подобных операций. Технология инсталлирована им в центрах трансплантации Нижнего Новгорода, Уфы, Новосибирска, Минска, Харькова.

Эдуард Абдулхаевич Галлямов в 2009 году награжден почетной грамотой Министерства транспорта Российской Федерации за высокое профессиональное мастерство и личный вклад в проведение сложнейшей операции, в 2010 году признан человеком года Федеральным научным центром трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова, в 2011 году награжден почетной грамотой мэра г. Москвы.

Коллектив редакции журнала «Вестник трансплантологии и искусственных органов» ао главе с главным редактором академиком С.В. Готье поздравляет Эдуарда Абдулхаевича с юбилеем и желает ему радости, бодрости духа, здоровья, оптимизма и сил для дальнейшего покорения профессиональных вершин в хирургии и воспитании учеников.

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

## ОТДЕЛ ПОДГОТОВКИ НАУЧНЫХ И МЕДИЦИНСКИХ КАДРОВ

Лицензия ААА № 002365  
Регистрационный № 2258 от 08.12.2011 г.

Россия, 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, тел./факс +7 (499) 193 87 62

ФГБУ «ФНЦТИО имени академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России, одно из ведущих научно-исследовательских медицинских учреждений, 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 1 до 2 месяцев) по направлениям деятельности института: трансплантация почки, трансплантация печени, трансплантация сердца, трансплантация поджелудочной железы, хирургия сердца, электрокардиостимуляция, перфузиология, реанимация и интенсивная терапия, гемодиализ, 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. Донорство в клинической трансплантологии.
5. Гемодиализ в нефрологии.
6. Трансплантационная иммунология и иммуносупрессия.
7. Основы и техника экстракорпорального кровообращения.
8. Сердечно-сосудистая хирургия.
9. Основы трансплантологии и искусственных органов.
10. Нефрологические аспекты трансплантации почки.
11. Трансплантация печени у детей.
12. Лучевая диагностика и лучевая терапия.
13. Патологическая анатомия у больных после аллотрансплантации органов и имплантации искусственных органов.
14. Реконструктивная хирургия сердца и магистральных сосудов.
15. Анестезиологические пособия и интенсивная терапия при трансплантации жизненно важных органов.

Продолжительность циклов – 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, отдел подготовки научных и медицинских кадров, руководитель отдела Великий Дмитрий Алексеевич:

e-mail: dim\_vel@mail.ru;

тел. +7 910 435 2701

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

# НАЗНАЧЬТЕ СЕРТИКАН® СЕГОДНЯ

## ОБЕСПЕЧЬТЕ УЛУЧШЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЗАВТРА



Раннее назначение Сертикана позволяет значительно уменьшить дозу ингибиторов кальциневрина (ИКН) без снижения эффективности терапии и улучшить отдаленные результаты трансплантации<sup>1</sup>

- Низкая частота тяжелых острых реакций отторжения трансплантата, подтвержденных при биопсии, в течение 12 месяцев терапии на фоне снижения дозы ИКН на 60%<sup>1</sup>
- Улучшение функции почек уже на 3-й день и в течение 12 месяцев терапии<sup>1</sup>
- Дополнительные преимущества: антипролиферативный и противовирусный эффект<sup>1,2</sup>

## СЕРТИКАН®/CERTICAN®

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

#### Лекарственная форма

Эверолимус. Таблетки 0,25 мг, 0,5 мг, 0,75 мг, 1 мг, таблетки диспергируемые 0,1 мг, 0,25 мг.

#### Показания

Профилактика отторжения трансплантата у взрослых реципиентов почки и сердца с низким и средним иммунологическим риском, получающих базовую иммуносупрессивную терапию циклоспорином в форме микроэмульсии и глюкокортикостероидами.

#### Способ применения и дозы

Рекомендуемая доза составляет 1,5 мг/сут в два приема (0,75 мг 2 раза в сутки). Следует тщательно наблюдать за состоянием пациентов с легкими или умеренными нарушениями функции печени; у этих пациентов может потребоваться снижение дозы препарата.

Рекомендуется терапевтический мониторинг концентрации Сертикана в цельной крови.

Опыт применения эверолимуса у детей ограничен.

#### Противопоказания

Повышенная чувствительность к эверолимусу, сиролимусу или другим компонентам препарата.

Редкие наследственные нарушения, связанные с непереносимостью галактозы, тяжелой лактазной недостаточностью или глюкозо-галактозной мальабсорбцией. Возраст до 18 лет.

#### Меры предосторожности

Следует соблюдать осторожность при применении индукционной терапии тимоглобулином (кроличий анти-тимочитарный глобулин) и схемы иммуносупрессии, включающей Сертикан, циклоспорин и глюкокортикостероиды. У пациентов, получающих терапию препаратом Сертикан®, повышается риск развития лимфом и других злокачественных новообразований, особенно кожи. Гипериммуносупрессия предрасполагает к развитию инфекций (бактериальной, грибковой, вирусной), в том числе ВК вирус-ассоциированной нефропатии, приводящей к отторжению трансплантата почки, и потенциально фатальной JC вирус-ассоциированной прогрессирующей множественной лейкоэнцефалопатии (ПМЛ). Пациенты, получающие Сертикан®, следует мониторировать с целью выявления гиперлипидемии. Применение препарата совместно с ингибиторами АПФ может сопровождаться развитием ангионевротического отека. У de-novo реципиентов почки возможно развитие протеинурии. Увеличение степени выраженности протеинурии может наблюдаться при полной отмене ингибитора кальциневрина (ИКН) на фоне терапии Сертиканом® у пациентов, получающих поддерживающую терапию и уже имеющих умеренную протеинурию. Требуется снижение дозы циклоспорина при совместном использовании с эверолимусом для того, чтобы избежать развития дисфункции почек. Рекомендуется регулярный мониторинг концентрации препаратов (эверолимуса и циклоспорина) в сыворотке крови, функции почек и протеинурии. Не рекомендуется совместное применение препарата Сертикан® с сильными ингибиторами и индукторами CYP3A4, за исключением тех случаев, когда ожидаемая польза такой терапии превышает потенциальный риск. В течение первых 30 дней после трансплантации отмечено увеличение риска развития тромбоза почечной артерии или вены, приводящего к отторжению трансплантата. Сертикан®, как и другие ингибиторы m-TOR, может ухудшать процесс заживления ран, приводить к возникновению пост-трансплантационных осложнений, особенно при наличии у пациента избыточной массы тела. Совместное назначение препарата Сертикан® и ингибиторов кальциневрина (ИКН) может повышать риск возникновения ИКН-индуцированного гемолитического уремического синдрома, тромбоцитопенической пурпуры, тромбоцитической микроангиопатии. При развитии интерстициальной болезни легких на фоне применения препарата следует уменьшить дозу (вплоть до отмены терапии). На фоне применения препарата Сертикан® повышается риск возникновения впервые диагностированного сахарного диабета, поэтому необходим тщательный мониторинг уровня глюкозы в сыворотке крови. Имеются данные о возникновении обратной азооспермии и олигоспермии у пациентов, получающих лечение ингибиторами m-TOR. Длительная терапия препаратом Сертикан® связана с риском развития мужского бесплодия.

Сертикан® не следует применять у пациентов с редкими наследственными нарушениями, связанными с непереносимостью галактозы, тяжелой лактазной недостаточностью или глюкозо-галактозной мальабсорбцией. Женщинам детородного возраста следует рекомендовать использовать эффективные методы контрацепции.

Не следует применять Сертикан® у беременных женщин за исключением тех случаев, когда ожидаемая польза от терапии превышает потенциальный риск для плода. При применении препарата Сертикан® следует отказаться от кормления грудью.

#### Взаимодействия

Следует соблюдать осторожность при совместном применении эверолимуса с рифампицином, рифабутином или кетоконазолом, интраконазолом, вориконазолом, кларитромицином, телитромицином или ритонавиром и при необходимости снижать дозу препарата.

Также следует соблюдать осторожность при одновременном применении препарата со Зверобоем продырявленным, эритромицином, флюконазолом, фенитоином, карбамазепином, фенобарбиталом, блокаторами кальциевых каналов, ингибиторами протеаз и препаратами для лечения ВИЧ. Следует избегать использования живых вакцин, грейпфрутового сока и грейпфрута.

#### Побочное действие

Наиболее частыми нежелательными явлениями при применении препарата Сертикан® в комбинации с циклоспорином в форме микроэмульсии и глюкокортикостероидами были лейкопения, гиперлипидемия и гиперхолестеринемия, перикардиальный или плевральный выпоты.

Часто отмечались: вирусные, бактериальные и грибковые инфекции, пневмония, сепсис, тромбоцитопения, анемия, коагулопатия, тромбоцитопеническая пурпура/ гемолитикоуремический синдром гипертриглицеридемия, впервые выявленный сахарный диабет, лимфоцеле, венозная тромбоземболия, тромбоз трансплантата, диарея, тошнота, рвота, боль в животе, боль, отеки, медленное заживление ран, гипертония, ангионевротический отек, акне, осложнения со стороны хирургической раны, панкреатит, протеинурия, эректильная дисфункция.

Иногда наблюдались: раневые инфекции, гемолиз, панцистопения, гипогонадизм у мужчин, интерстициальная болезнь легких, гепатит, печеночные нарушения, желтуха, нарушения показателей печеночной функции, сыпь, миалгия, некроз почечных канальцев, пиелонефрит.

Очень редко: альвеолярный протеиноз, лейкоцитокластический васкулит.

#### Примечание для врачей

Прежде, чем назначить препарат, пожалуйста, прочитайте также инструкцию по применению.

Новartis Фарма АГ, произведено Новartis Фарма Штейн АГ, Швейцария

Сертикан таблетки: № ЛС-002282 от 29-07-2011. Сертикан диспергируемые таблетки: № ЛС-002281 от 24-11-2006.

**Литература.** 1. Tedesco-Silva H, et al. Everolimus Plus Reduced-Exposure CsA versus Mycophenolic Acid Plus Standard-Exposure CsA in Renal-Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2010; 10, 1401-1413. 2. Kauffman MH, Chenkh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. Transplantation. 2005;80:883-889.

# ВАЛЬЦИТ 200 ДНЕЙ

## РАСКРОЙ ВЕСЬ ПОТЕНЦИАЛ<sup>1</sup>



**Сокращает риск<sup>2</sup> смертности от ЦМВ на 74%**  
**общей смертности на 37%**

Регистрационный номер: П N015446/01 Торговое название препарата: Вальцит<sup>®</sup> Международное непатентованное название: Валганцикловир Показания: лечение ЦМВ рети-  
та у больных СПИДом. Профилактика ЦМВ инфекции после трансплантации органов у пациентов из группы риска. Противопоказания: повышенная чувствительность к валган-  
цикловиру, ганцикловиру или любому компоненту препарата. Дети до 12 лет. С осторожностью: пожилой возраст (безопасность и эффективность препарата не установлены).  
Стандартный режим дозирования: больным, перенесшим трансплантацию почки, необходимо начать терапию препаратом Вальцит<sup>®</sup> в течение первых 10 дней после операции  
в дозе 900 мг (2 таблетки по 450 мг) 1 раз в сутки и продолжать терапию по 200-е сутки посттрансплантационного периода. Нежелательные явления: наиболее частыми неже-  
лательными реакциями вне зависимости от серьезности, но по мнению исследователей связанными с приемом препарата у пациентов после трансплантации солидных органов  
были: лейкопения, диарея, тошнота, нейтропения. Перед назначением следует ознакомиться с полной инструкцией по применению препарата.

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Вальцит<sup>®</sup> 2. Cochrane Database Syst Rev. 2008 Apr 16;(2)

**Вальцит<sup>®</sup>**  
валганцикловир

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



# Фрагмин® – безопасный антикоагулянт для профилактики венозных тромбозных осложнений у пациентов с нарушением функции почек\*<sup>3</sup>



\* у больных с тяжелой почечной недостаточностью, получающих далтепарин в течение 10 дней

Следует соблюдать осторожность при назначении Фрагмина® пациентам с повышенным риском развития кровотечений; к этой группе относятся пациенты с тромбоцитопенией, нарушениями функций тромбоцитов, тяжелой печеночной или почечной недостаточностью, неконтролируемой артериальной гипертензией, гипертонической или диабетической ретинопатией<sup>4</sup>.

**Фрагмин**  
Pfizer

## Фрагмин® в профилактической дозе 5 000 МЕ не повышает риск кровотечений у больных с почечной недостаточностью, т.к. не накапливается в организме<sup>1-3</sup>

**Краткая характеристика лекарственного препарата Фрагмин®** (полную информацию см. в инструкции по медицинскому применению препарата Фрагмин®)<sup>4</sup>

**Международное непатентованное название:** Далтепарин натрия. **Фармакологическое действие:** Антикоагулянтное средство прямого действия. Низкомолекулярный гепарин. **Показания к применению:** Лечение острого тромбоза вен и тромбозов легочной артерии; профилактика свертывания крови в системе экстракорпорального кровообращения во время гемодиализа или гемофильтрации у пациентов с острой или хронической почечной недостаточностью; профилактика тромбообразования при хирургических вмешательствах; профилактика тромбозных осложнений у больных с терапевтическим заболеванием в острой фазе и ограниченной подвижностью (в т.ч. при состояниях, требующих постельного режима); нестабильная стенокардия и инфаркт миокарда (без зубца Q на ЭКГ); длительное лечение (до 6 месяцев) с целью предотвращения рецидива венозных тромбозов и легочных тромбозов у больных с онкологическими заболеваниями. **Противопоказания:** Повышенная чувствительность к далтепарину натрия или к другим низкомолекулярным гепаринам и/или гепарину. Иммуная тромбоцитопения. Кровотечение (клинически значимое). Выраженные нарушения системы свертывания крови. Септический эндокардит. Недавние травмы или оперативные вмешательства на органах центральной нервной системы, органах зрения и/или слуха. **Способ применения и дозы:** Фрагмин® нельзя вводить внутримышечно! При выборе дозы и режима введения следует обращаться к инструкции по медицинскому применению. **Побочное действие:** Отмечаются следующие побочные явления (с частотой  $\geq 1\%$ ): кровотечения, гематома в месте инъекции, обратимая неймунная тромбоцитопения, болезненность в месте инъекции, аллергические реакции, а также преходящее повышение активности «печеночных» трансаминаз (аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы). **Особые указания:** При проведении нейроаксиальной анестезии или при выполнении спинномозговой пункции существует повышенный риск развития эпидуральной или спинальной гематомы. Высокие дозы препарата Фрагмин следует применять с особой осторожностью у больных в раннем послеоперационном периоде.

РУ П N014647/01-140109; П N014647/02-160109; П N012506/01-150711



Представительство Корпорации  
«Пфайзер Эйч.Си.Пи. Корпорейшн» (США)  
123317, Москва, Пресненская наб., д.10  
БЦ «Башня на Набережной» (Блок С)  
Тел.: +7 495 2875000  
Факс: +7 495 2875300

1. Douketis J et al. Arch Intern Med 2008; 168: 1805-1812.
2. Geerts WH et al. Chest 2008; 133: 381S-453S.
3. P.Shhmid et al. Swiss Med WKLY 2009;139 (31-32): 438-452
4. Инструкция по медицинскому применению препарата Фрагмин®

ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ  
ИНВАЗИВНЫМИ ГРИБКОВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

# ВРЕМЕНИ ДЛЯ ВТОРОГО ШАНСА НЕ БУДЕТ

В/В, ТАБ.



# ВИФЕНД®

## ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ ТЕРАПИИ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЁЗА<sup>2,3</sup>

вориконазол

КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА ВИФЕНД<sup>1</sup>

**Международное непатентованное название:** вориконазол

**Фармакологическая группа:** противогрибковое средство

**Показания к применению:**

- Инвазивный аспергиллез
- Тяжелые инвазивные формы кандидозной инфекции (включая *C. krusei*)
- Кандидоз пищевода
- Тяжелые грибковые инфекции, вызванные *Scedosporium spp.* и *Fusarium spp.*
- Другие тяжелые грибковые инфекции при непереносимости или рефрактерности к другим лекарственным средствам
- Профилактика «прорывных» грибковых инфекций у лихорадящих больных группы высокого риска (реципиентов аллогенной трансплантации костного мозга, больных с рецидивом лейкоза)

**Способ применения.** У детей от 2 до 12 лет: в/в 7 мг/кг 2 раза в сутки; перорально 200 мг 2 раза в сутки. У взрослых и детей старше 12 лет: 6 мг/кг в/в каждые 12 ч в течение первых суток, далее 4 мг/кг каждые 12 ч при лечении инвазивных микозов или 3 мг/кг каждые 12 ч при профилактике «прорывных» инфекций.

**Список литературы:**

1. Инструкция по медицинскому применению препарата Вифенд®. Одобрена Росздравнадзором 21.03.2005 г. № 592-Пр/05 2. Walsh TJ, Anaissie EJ, Denning DW, et al. Clin Infect Dis. 2008;46(3):327-360. 3. Herbrecht R, Fluckiger U, Gachot B, Ribaud P, Thiebaut A, Cordonnier C. Antifungal therapy in leukemia patients 2009 update of the ECL1 and ECL2 guidelines. Presented at: 3rd European Conference on Infections in Leukemia; September 25-26, 2009; Juan-Jes-Pins, France. <<http://www.ichs.org/Default.aspx?pageId=711654>>. Accessed Feb 20, 2012.



Представительство Корпорации «Пфайзер Эйч. Си. Пи. Корпорэйшн» (США)  
Россия, 123317 Москва, Пресненская наб., д.10, БЦ «Башня на Набережной» (Блок С)  
Тел.: +7 (495) 287 50 00. Факс: +7 (495) 287 53 00.