Памяти наших учителей
Б.В. Петровского,
Г.М. Соловьева,
В.И. Шумакова,
А.К. Ерамишанцева,
открывших эру клинической трансплантации
в России

Министерство здравоохранения Российской Федерации

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

Общероссийская общественная организация трансплантологов
«Российское трансплантологическое общество»

Трансплантология: итоги и перспективы

Том VI

2014 год

Под редакцией академика РАН С.В. Готье

Москва
2015

УДК 616-089.819.843
ББК 52.5
Т65

Трансплантология: итоги и перспективы. Том VI. 2014 год /
Т65 Под ред. С.В. Готье. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2015. – 448 с.: ил.

ISBN

Настоящая книга представляет собой VI том из серии ежегодных изданий, содержит аналитические, обзорные статьи и документы за 2014 год по проблеме трансплантологии и искусственных органов. Объем и география клинической трансплантации органов в трансплантационных центрах России представлены по данным VII сообщения регистра Российского трансплантологического общества. В издание включены краткие обзоры материалов итоговых отчетов по завершенным научно-исследовательским работам, авторефераты диссертаций, защищенных по специальности «трансплантология и искусственные органы», библиография публикаций российских ученых в зарубежных изданиях в 2014 году.

ББК 52.5

Редакторы и составители:
С.В. Готье, О.П. Шевченко, О.М. Цирульникова, Е.В. Яновская, Е.А. Стаханова, О.Н. Щетинина

ISBN

© С.В. Готье, 2015
© Макет ООО «Издательство «Триада», 2015

Авторы

Агапов Игорь Иванович
Доктор биологичечких наук, профессор,
заведующий лабораторией бионанотехнологий
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России,
доцент кафедры биоинженерии биологического факультета
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

Агапова Ольга Игоревна
Научный сотрудник лаборатории бионанотехнологий
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Бурцев Вячеслав Иванович
Младший научный сотрудник лаборатории
биотехнических систем
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Бучнев Александр Сергеевич
Ведущий инженер лаборатории биотехнических систем
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Быков Илья Викторович
Аспирант лаборатории биотехнических систем
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Венедиктов Алексей Александрович
ООО «Кардиоплант» ЗАО «НПП «МедИнж»

Головинский Сергей Владимирович
Кандидат медицинских наук,
научный сотрудник отдела клинической трансплантологии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Готье Сергей Владимирович
Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,
директор ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова»
Минздрава России,
заведующий кафедрой трансплантологии и искусственных
органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Григорьев Алексей Михайлович
Старший научный сотрудник лаборатории тканевой инженерии и систем доставки отдела биомедицинских технологий ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Дробышев Александр Александрович
Ведущий инженер лаборатории биотехнических систем ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Ефимов Антон Евгеньевич
Кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории бионанотехнологий ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Жирнова Татьяна Юрьевна
Кандидат медицинских наук, врач-педиатр хирургического отделения № 2 ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, врач лечебной физкультуры ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Захаревич Вячеслав Мефодьевич
Доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела кардиохирургии, трансплантации сердца и легких ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, профессор кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Ильинский Игорь Михайлович
Доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом патологической анатомии ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Ирышкин Олег Евгеньевич
Кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Иткин Георгий Пинкусович
Доктор биологических наук, профессор,
заведующий лабораторией биотехнических систем
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Кирсанова Людмила Анфилофьевна
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
лаборатории клеточной трансплантации отдела
биомедицинских технологий и тканевой инженерии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

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

Миронков Алексей Борисович
Доцент кафедры хирургии и эндоскопии
ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Миронков Борис Леонтьевич
Доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением
рентгенохирургических методов лечения
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Мойсюк Ян Геннадиевич
Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий отделом клинической трансплантологии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России,
профессор кафедры трансплантологии и искусственных
органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Насырова Альфия Айратовна
Врач отделения ультразвуковой и функциональной диагностики
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Онищенко Нина Андреевна
Доктор медицинских наук, профессор,
главный научный сотрудник отдела биомедицинских
технологий и тканевой инженерии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Остроумов Евгений Николаевич
Доктор медицинских наук, профессор,
врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Погребниченко Игорь Викторович
Кандидат медицинских наук

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

Рахматуллин Рамиль Рафаилевич
Кандидат медицинских наук,
заведующий научно-производственной
лабораторией клеточных технологий
ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»

Саитгареев Ринат Шакирьянович
Доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом
кардиохирургии, трансплантации сердца и легких
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Саховский Степан Анатольевич
Аспирант отделения рентгенохирургических
методов лечения ФГБУ «ФНЦТИО
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Севастьянов Виктор Иванович
Доктор биологических наук, профессор,
заведующий отделом биомедицинских технологий
и тканевой инженерии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Скалецкий Николай Николаевич
Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией клеточной
трансплантации отдела биомедицинских
технологий и тканевой инженерии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Спирина Екатерина Александровна
Кандидат медицинских наук,
врач анестезиолог-реаниматолог отделения
анестезиологии, реанимации
и интенсивной терапии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Стаханова Екатерина Анатольевна
Аспирантка отдела регуляторных механизмов
в трансплантологии с лабораторией клинической
и экспериментальной биохимии,
научный сотрудник отдела мониторинга
и координации научных программ
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Столяревич Екатерина Сергеевна
Доктор медицинских наук,
старший научный сотрудник
отдела нефрологических проблем
трансплантации почки
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Сушков Александр Игоревич
Кандидат медицинских наук,
научный сотрудник отдела клинической
трансплантологии ФГБУ «ФНЦТИО
им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Сысоев Андрей Анатольевич
Ведущий инженер лаборатории биотехнических систем
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Томилина Наталья Аркадьевна
Доктор медицинских наук, профессор,
заведующая отделом нефрологических проблем
трансплантации почки
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Тюняева Ирина Юрьевна
Кандидат медицинских наук,
заведующая отделением ультразвуковой
и функциональной диагностики
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Халилулин Тимур Абдулнаимович
Кандидат медицинских наук, врач-хирург кардиохирургического отделения № 3 ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, доцент кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Хомяков Сергей Михайлович
Кандидат медицинских наук, помощник директора, заведующий лабораторией стратегии и мониторинга развития трансплантологической помощи ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Цирульникова Ирина Евгеньевна
Кандидат медицинских наук, врач хирургического отделения № 2 ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Цирульникова Ольга Мартеновна
Доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела клинической трансплантологии ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, профессор кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Шагидулин Мурат Юнусович
Кандидат медицинских наук, заведующий отделом экспериментальной трансплантологии и искусственных органов ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, доцент кафедры трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Шевченко Алексей Олегович
Доктор медицинских наук, заведующий кардиологическим отделением ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, профессор кафедры кардиологии ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Шевченко Ольга Павловна
Доктор медицинских наук, профессор,
заместитель директора по научной работе,
заведующая отделом регуляторных механизмов
в трансплантологии с лабораторией клинической
и экспериментальной биохимии
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России,
профессор кафедры трансплантологии
и искусственных органов лечебного факультета
ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России

Шумаков Дмитрий Валерьевич
Член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,
профессор, заведующий кардиохирургическим отделением № 2
ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России,
профессор кафедры трансплантологии и искусственных
органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Оглавление

ПРЕДИСЛОВИЕ 16

I. ПРЕМИЯ ПРАВИТЕЛЬСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ОБЛАСТИ НАУКИ И ТЕХНИКИ ЗА РАЗРАБОТКУ И ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И ОРГАНИЗАЦИОННЫХ РЕШЕНИЙ ПО ПОВЫШЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА 17

II. ОТ СЪЕЗДА К СЪЕЗДУ
(VII Всероссийский съезд трансплантологов)
Шевченко О.П. 29

III. ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2014 ГОДУ
(VII сообщение регистра Российского трансплантологического общества)
Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М. 43

IV. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 77

Инновации в области трансплантологии, искусственных органов, регенеративной медицины (краткий аналитический отчет о результатах выполненных работ в рамках государственного задания Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок за 2012–2014 гг.)
Шевченко О.П., Стаханова Е.А. 78

Обзор результатов НИР по направлению «Разработка биологических и клинических аспектов трансплантации жизненно важных органов» 85

Механизмы поражения и обратного ремоделирования миокарда при застойной сердечной недостаточности и после трансплантации сердца
Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Шевченко А.О., Шумаков Д.В., Саховский С.А., Миронков А.Б. 86

Молекулярные механизмы развития и прогрессирования
болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата
*Шевченко А.О., Миронков Б.Л., Попцов В.Н., Саитгареев Р.Ш.,
Тюняева И.Ю., Насырова А.А., Захаревич В.М.,
Халилулин Т.А., Шевченко О.П.* 91

Трансплантация органов и тканей в условиях тканевой
несовместимости и от АВ0-несовместимых доноров
*Готье С.В., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Шевченко О.П.,
Цирульникова И.Е., Сушков А.И., Курабекова Р.М.* 97

Биологические аспекты взаимодействия трансплантата
и реципиента и пути пролонгирования функции
трансплантата в организме реципиента
*Столяревич Е.С, Томилина Н.А., Цирульникова О.М.,
Мойсюк Я.Г., Ильинский И.М., Готье С.В.* 102

**Обзор результатов НИР по направлению
«Регенеративная медицина, клеточные технологии,
создание биоискусственных органов»** 109

Системный микро- и наноструктурный анализ полимерных
материалов для заместительной и регенеративной медицины
Ефимов А.Е., Агапова О.И., Агапов И.И. 110

Разработка и экспериментальное исследование
тканеинженерных конструкций поджелудочной железы
из культур островковых клеток и биодеградируемых
носителей с целью стимуляции регенерации β-клеток
у больных сахарным диабетом
Скалецкий Н.Н., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И. 120

Разработка и экспериментально-клиническое исследование
тканеинженерной конструкции хряща
Севастьянов В.И., Григорьев А.М., Скалецкий Н.Н., Готье С.В. 125

Разработка и экспериментальное исследование
тканеинженерных конструкций печени из ассоциатов
клеток печени и биодеградируемых носителей
Готье С.В., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Севастьянов В.И. 131

**Обзор результатов НИР по направлению
«Искусственные органы»**.....137

Разработка методики экспериментальной и клинической
апробации имплантируемых осевых насосов
Иткин Г.П. 138

Разработка методики бивентрикулярного обхода сердца
с помощью осевых насосов в эксперименте
Иткин Г.П., Бурцев В.И., Дробышев А.А., Сысоев А.А, Бучнев А.С. 144

Разработка медико-технических требований к осевому
насосу для двухэтапной трансплантации сердца у детей
Иткин Г.П., Сысоев А.А. 151

V. КНИГИ И МОНОГРАФИИ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ В 2014 г. ПО ПРОБЛЕМЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ 159

VI. ДИССЕРТАЦИИ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ», ЗАЩИЩЕНЫ В 2014 г. 173

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук 175

Рахматуллин Р.Р.
Биопластический материал на основе гидроколлоида
гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса
для восстановительной и реконструктивной хирургии 176

Авторефераты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук 215

Быков И.В.
Вспомогательное кровообращение на базе осевых насосов
(математическое моделирование процессов управления) 216

Венедиктов А.А.
Разработка биоматериалов для реконструктивной хирургии
на основе ксеноперикардиальной ткани 244

Головинский С.В.
Многофакторная оценка и защита структурно-функционального
состояния легких у доноров со смертью головного мозга 273

Жирнова Т.Ю.
Роль физической реабилитации в лечении реципиентов
с донорской почкой.....298

Ирышкин О.Е.
Патоморфология билиарной атрезии и билиарной гипоплазии
у детей – реципиентов донорской печени 315

Погребниченко И.В.
Эффективное использование печени мультиорганного донора для трансплантации 340

Спирина Е.А.
Ранняя активизация реципиентов после ортотопической трансплантации сердца 372

Сушков А.И.
АВ0-несовместимая родственная трансплантация почки 397

Цирульникова И.Е.
Трансплантация печени детям от АВ0-несовместимых доноров 420

VII. УКАЗАТЕЛЬ РАБОТ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ В 2014 г. 445

Глубокоуважаемые коллеги!

Очередной, шестой том серии «Трансплантология: итоги и перспективы» выходит с посвящением нашим Учителям, открывшим эру клинической трансплантологии в России. 2015 год знаменателен памятными датами в истории отечественной трансплантологии: это 50-летие первой трансплантации почки и 25-летие первой трансплантации печени в нашей стране. В контексте таких значимых юбилейных дат особенно интересен анализ очередного, VII сообщения регистра Российского трансплантологического общества, традиционно размещаемого в нашей книге и позволяющего наглядно представить тот путь, который прошла отечественная клиническая трансплантология за прошедшие годы.

Издание открывает выдержка из Постановления Правительства РФ о присуждении Премии Правительства в области науки и техники за 2014 год коллективу авторов из 4 российских трансплантологических центров за разработку и внедрение в практику здравоохранения инновационных научно-технологических и организационных решений по повышению эффективности трансплантации сердца.

Настоящий выпуск включает информацию о прошедшем в 2014 году VII Всероссийском съезде трансплантологов, информацию о книгах, вышедших в 2014 году, и библиографию работ отечественных ученых в зарубежных изданиях. Результаты научных исследований в области трансплантологии, искусственных органов, регенеративной медицины представлены в виде кратких обзоров материалов итоговых отчетов по НИР, завершенным в прошедшем году, а также авторефератов защищенных в 2014 году диссертаций по специальности «трансплантология и искусственные органы».

Начало серии «Трансплантология: итоги и перспективы» положено в 2010 году, когда был издан первый выпуск, содержащий документы и материалы в области клинической трансплантологии, а также данные научных исследований в этой области за 2009 год. Сегодня, оценивая шестилетние итоги проекта, можно с уверенностью сказать, что это издание представляет собой своего рода энциклопедию современной отечественной трансплантологии. Хочется надеяться, что наши усилия окажутся полезны для специалистов, в особенности для молодых ученых и врачей, совершающих первые шаги на этом трудном, но благородном и таком необходимом поле профессиональной деятельности.

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

I. ПРЕМИЯ ПРАВИТЕЛЬСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ОБЛАСТИ НАУКИ И ТЕХНИКИ ЗА РАЗРАБОТКУ И ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И ОРГАНИЗАЦИОННЫХ РЕШЕНИЙ ПО ПОВЫШЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

ПРАВИТЕЛЬСТВО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Р А С П О Р Я Ж Е Н И Е

от 26 февраля 2015 г. № 303-р

М О С К В А

О присуждении премий Правительства Российской Федерации 2014 года в области науки и техники

Присудить премии Правительства Российской Федерации 2014 года в области науки и техники и присвоить звание «Лауреат премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники»:

…7) Готье Сергею Владимировичу, академику, доктору медицинских наук, профессору, директору Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководителю работы; Захаревичу Вячеславу Мефодьевичу, доктору медицинских наук, главному научному сотруднику; Погребниченко Игорю Викторовичу, Шумакову Дмитрию Валерьевичу, члену-корреспонденту Российской академии наук, доктору медицинских наук, профессору, заведующим отделениями; Попцову Виталию Николаевичу, доктору медицинских наук, профессору, заместителю директора; Саитгарееву Ринату Шакирьяновичу, доктору медицинских наук, профессору, руководителю отдела – работникам того же учреждения; Барбухатти Кириллу Олеговичу, доктору медицинских наук, заведующему отделением государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края; Порханову Владимиру Алексеевичу, члену-корреспонденту Российской академии наук, доктору медицинских наук, профессору, главному врачу того же учреждения; Мининой Марине Геннадьевне, кандидату медицинских наук, заведующей Московским координацион-

ным центром органного донорства Департамента здравоохранения города Москвы Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы»; Чернявскому Александру Михайловичу, доктору медицинских наук, профессору, руководителю Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий Федерального государственного бюджетного учреждения «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, – за разработку и внедрение в практику здравоохранения инновационных научно-технологических и организационных решений по повышению эффективности трансплантации сердца…

Председатель Правительства
Российской Федерации Д. Медведев

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ

Готье Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, академик Российской академии наук, директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации – руководитель работы

Захаревич Вячеслав Мефодьевич, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела кардиохирургии, трансплантации сердца и легких ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Погребниченко Игорь Викторович, заведующий отделением координации органного донорства ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Попцов Виталий Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по высокотехнологичной медицинской помощи ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Саитгареев Ринат Шакирьянович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом кардиохирургии, трансплантации сердца и легких ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Шумаков Дмитрий Валерьевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, заведующий кардиохирургическим отделением № 2 ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России

Минина Марина Геннадьевна, кандидат медицинских наук, руководитель Московского координационного центра органного донорства Департамента здравоохранения города Москвы в составе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения города Москвы»

Чернявский Александр Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий Федерального государственного бюджетного учреждения «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Барбухатти Кирилл Олегович, доктор медицинских наук, заведующий отделением кардиохирургии № 2 Государственного бюджетного учреж-

дения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края

Порханов Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, главный врач ГБУЗ «ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского» Минздрава Краснодарского края

РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ В ПРАКТИКУ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И ОРГАНИЗАЦИОННЫХ РЕШЕНИЙ ПО ПОВЫШЕНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА (краткая аннотация)

Трансплантация сердца является единственным радикальным и эффективным способом спасения жизни пациентов с терминальной сердечной недостаточностью. Ежегодная потребность населения Российской Федерации в трансплантации сердца, по экспертной оценке, составляет более 1000 операций. До начала настоящей работы выполнение трансплантации сердца на территории РФ ограничивалось единичными операциями – до 10 в год.

Контингент пациентов – кандидатов на трансплантацию сердца характеризуется быстрым, часто внезапным переходом из стадии относительной компенсации в стадию тотальной сердечной недостаточности, грозящей летальным исходом в ближайшие часы. Это определяло процент летальности в листе ожидания трансплантации сердца, составлявший 25–30%. Для спасения таких пациентов необходимы экстренная пересадка сердца или использование различных видов механической поддержки кровообращения и экстракорпоральной оксигенации.

Авторским коллективом представлен опыт работы четырех медицинских организаций, направленный на расширение возможностей оказания своевременной адекватной помощи пациентам с терминальной сердечной недостаточностью, а также инновационные модели и организационные решения по активизации рационального использования ресурса донорских органов, основанные на принципах ВОЗ, законодательстве РФ и административных документах, разработанных и введенных в действие на территории г. Москвы, Новосибирской области и Краснодарского края.

Разработаны методики поддержания жизнеспособности органов, в частности сердца, в организме умершего, технологии восстановления функции пересаженного сердца в организме реципиента. Работа охватывает 5-летний период, в течение которого накапливался опыт успешного использования донорских сердец как с обычными, общепринятыми, так

и с расширенными критериями отбора, как по возрасту донора, так и по морфологическим параметрам сердца (изменения клапанного аппарата и гипертрофия миокарда). Разработаны методики оценки пригодности донорского сердца, способы хирургической коррекции при наличии исходных дефектов сердечного трансплантата, методики медикаментозного и механического сопровождения реконвалесценции трансплантата и реципиента. Накоплен уникальный для мировой практики опыт использования экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) как на донорском этапе для поддержания системного кровообращения и/или оксигенации организма донора после констатации смерти мозга, так и у реципиентов донорского сердца в пред- и послеоперационном периодах. В результате принятых научно-технологических и организационных решений число операций по пересадке сердца возросло в 6,25 раза, показатели послеоперационной летальности уменьшились с 26,7 до 6,8%; выполнены первые успешные трансплантации комплекса «сердце–легкие». Летальность в листе ожидания трансплантации сердца снизилась с 28% в 2008 г. до 1,6%. В 2013 г. в ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России было выполнено рекордное для мировой практики число трансплантаций сердца (102).

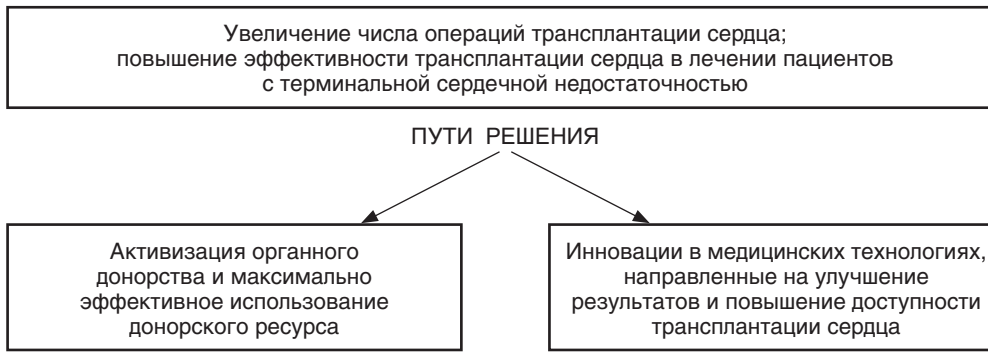
Произведен научный анализ эффективности представленных технологий, результаты которого опубликованы в монографиях и статьях, а также неоднократно доложены на международных конференциях.

Социально-экономическая эффективность: увеличение продолжительности жизни (до 10 и более лет) после трансплантации сердца в сравнении с пациентами с терминальной сердечной недостаточностью (до двух лет) и улучшение в 3–4 раза качества жизни. Сокращение прямых и косвенных расходов на лечение больного сердечной недостаточностью; возвращение к активной жизни трудоспособных членов общества. Затраты на лечебные мероприятия – подготовку к пересадке сердца, хирургическое вмешательство, ведение послеоперационного периода – даже с использованием ЭКМО в 4 раза меньше, чем при использовании постоянных имплантируемых механических систем вспомогательного кровообращения. Разработанные инновационные решения транслированы в программы трансплантации сердца Санкт-Петербурга, Белгорода, Уфы, Казани, Кемерова.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

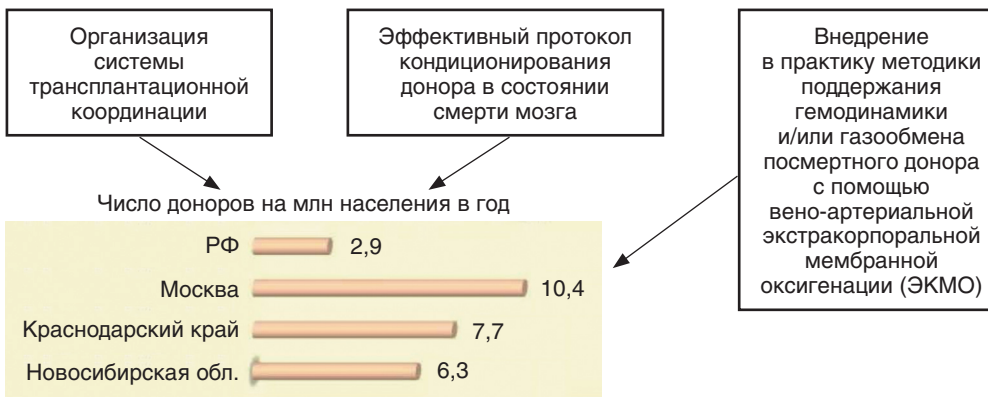
Сердечно-сосудистые заболевания – наиболее частая причина смерти, летальность при них составляет 56,7% от таковой при неинфекционных болезнях. В РФ сердечно-сосудистыми заболеваниями страдают около 8 млн человек, из которых у 3,5 млн выраженность сердечной недостаточности

соответствует III и IV функциональным классам. Эти пациенты составляют половину госпитализируемых больных и умирают в течение 1 года, несмотря на интенсивное медикаментозное лечение. Именно они становятся потенциальными реципиентами донорского сердца. Минимальная потребность России в трансплантации сердца – 1000 операций в год. За период с 1987-го по 2008 г. (за 21 год) в стране было выполнено только 154 пересадки сердца со средней госпитальной летальностью 26,7%. В связи с этим авторами была сформулирована основная задача работы:



Реализация решения поставленной задачи затронула многие аспекты организационной, медицинской и конструкторской деятельности, которые легли в основу результатов представленной работы.

АКТИВИЗАЦИЯ ОРГАННОГО ДОНОРСТВА И МАКСИМАЛЬНО ЭФФЕКТИВНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОНОРСКОГО РЕСУРСА



Расширение критериев пригодности донорского сердца

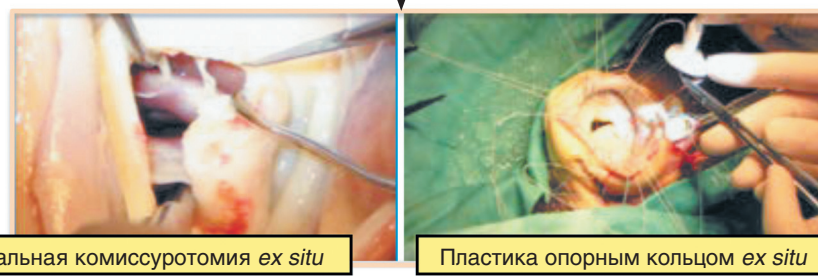
Использование трансплантатов сердца от доноров старше 40 лет

Число трансплантатов от доноров старше 40 лет увеличилось с 2 (13,3% из 15 трансплантаций сердца в 2008 г.) до 56 (54,9% из 102 трансплантаций в 2013 г.)

Использование трансплантатов с гипертрофией миокарда левого желудочка более 14 мм

Использовано 22 сердца: летальность – 1 пациент (4,5%)

Использование трансплантатов сердца, требующих коррекции клапанного аппарата



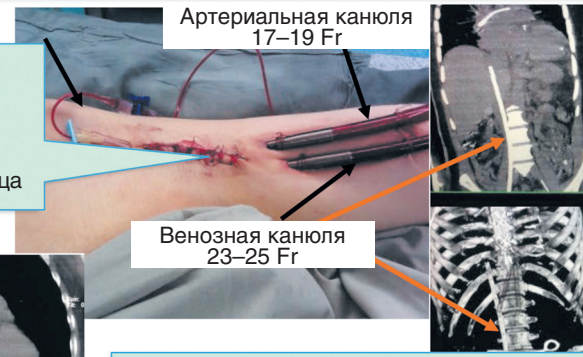
Минеральная комиссуротомия *ex situ*

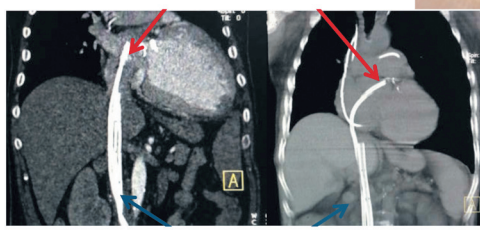
Пластика опорным кольцом *ex situ*

ИННОВАЦИИ В МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ, НАПРАВЛЕННЫЕ НА УЛУЧШЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ПОВЫШЕНИЕ ДОСТУПНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Снижение летальности потенциальных реципиентов и поддержание жизни в период ожидания донорского сердца

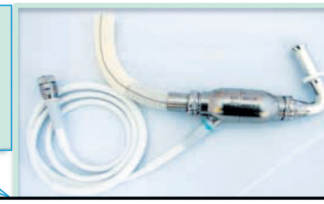
Внедрение в практику периферической вено-артериальной ЭКМО у пациентов, нуждающихся в неотложной трансплантации сердца





Собственная разработка
Чрескожное трансфеморальное дренирование левого предсердия с целью объёмной разгрузки левого желудочка при проведении ЭКМО

Использование имплантируемых систем вспомогательного кровообращения



Первый отечественный искусственный левый желудочек сердца (АВК-Н – разработка ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова) и пациент Б., 67 лет, первый носитель АВК-Н

Расширение контингента потенциальных реципиентов. Минимизация противопоказаний

Трансплантация сердца пациентам с сопутствующей легочной гипертензией

Трансплантация сердца пациентам, ранее оперированным на грудной клетке

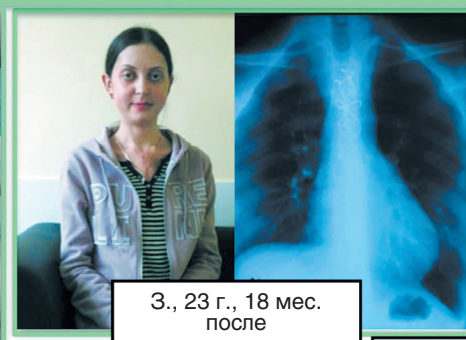
Трансплантация сердца пациентам старше 60 лет

Е., 75 лет, 3 мес. после операции

Трансплантация сердца детям от взрослых доноров

Трансплантация сердца от АВ0-несовместимых доноров

Первые в РФ успешные трансплантации сердечно-легочного комплекса



З., 23 г., 18 мес. после трансплантации

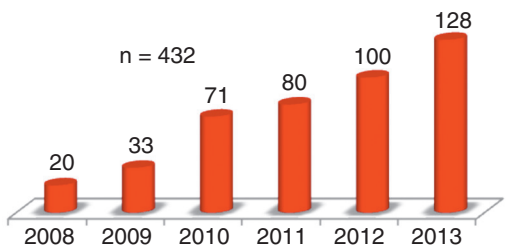
Т., 30 лет, 29 мес. после трансплантации

Оптимизация тактики послеоперационного ведения реципиентов

Патогенетически обоснованное расширение применения экстракорпоральной детоксикации → Заместительная почечная терапия, альбуминовый диализ, плазмообмен, селективная сорбция

Разработка и внедрение методики ранней послеоперационной активизации

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ



Число операций, выполненных в трех учреждениях, выросло в 6,25 раза

Госпитальная летальность уменьшилась в 3,9 раза

Число пациентов в листе ожидания увеличилось в 5 раз.

Летальность в период ожидания донорского сердца уменьшилась в 17,5 раза

Социально-экономическая эффективность: сокращение прямых и косвенных расходов на лечение больного с терминальной сердечной недостаточностью; возвращение к активной жизни трудоспособных членов общества на 10 и более лет и улучшение качества их жизни в 3–4 раза. Затраты на лечебные мероприятия, связанные с подготовкой к пересадке сердца, хирургическим вмешательством в условиях искусственного кровообращения, ведением послеоперационного периода, даже с использованием ЭКМО до и после операции, в 4 раза меньше, чем при использовании постоянных имплантируемых механических систем вспомогательного кровообращения.

Осуществлен прорыв в числе выполненных операций по трансплантации сердца: 102 пересадки сердца в ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в 2013 г. – рекорд среди трансплантационных центров мира, а клинические результаты соответствуют лучшим мировым показателям.

Разработанные инновационные решения транслированы в программы трансплантации сердца других регионов нашей страны (Санкт-Петербург, Белгород, Уфа, Казань, Кемерово).

II. ОТ СЪЕЗДА К СЪЕЗДУ

(VII Всероссийский съезд трансплантологов)

ОТ СЪЕЗДА К СЪЕЗДУ (VII Всероссийский съезд трансплантологов)

Шевченко О.П.

28–30 мая 2014 г. в Москве состоялся VII Всероссийский съезд трансплантологов (в соответствии с п. 27 Плана научно-практических мероприятий Министерства здравоохранения Российской Федерации на 2014 г., утвержденного приказом Минздрава России от 31 марта 2014 г. № 146, и с приказом Минздрава России от 20 мая 2014 г. № 226).

Открытие VII Всероссийского съезда трансплантологов

В работе VII съезда, как и в предшествующих всероссийских форумах трансплантологов, приняли участие ученые, врачи, организаторы здравоохранения, главные внештатные специалисты-трансплантологи из большинства регионов России, ведущие российские и зарубежные специалисты в области клинической и экспериментальной трансплантологии, а также смежных специальностей, представители профессиональных медицинских обществ и ассоциаций, индустрии медицинской техники и фармацевтических препаратов.

В адрес участников съезда было зачитано приветствие Министра здравоохранения Российской Федерации В.И. Скворцовой.

В рамках съезда прошли пленарные и секционные заседания, мастер-классы с трансляцией из операционной, лекции, «круглые столы», IV Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена», анализ редких клинических наблюдений. Научная программа съезда включала научные доклады и выступления, представленные ведущими российскими и зарубежными учеными и клиницистами, организаторами здравоохранения, в которых были затронуты вопросы, касающиеся проблемы оказания трансплантологической помощи в регионах Российской Федерации, организационно-правовых, социальных и этических аспектов донорства органов, клинической трансплантации органов, регенеративной медицины и клеточных технологий, создания биоискусственных органов, систем вспомогательного кровообращения и искусственного сердца.

Доклад академика РАН С.В. Готье на открытии съезда «Трансплантология сегодня: высокие технологии в медицине и инновации в биомедицинской науке» как нельзя более точно отразил суть и современное состояние этой области медицины и биомедицинской науки, сочетающей и активно аккумулирующей все новое, трансформирующей результаты исследований в новые возможности лечения; тесно связанной с технологиями регенеративной медицины и разработками в области искусственных органов.

Выступление академика РАН С.В. Готье на открытии съезда

На заседании «Трансплантация у детей: невозможное – возможно» доложены результаты исследований, посвященных трансплантации печени и почки у детей (Петр Каличинский, Республика Польша; А.Л. Валов, Москва), представлен уникальный опыт АВ0-несовместимых трансплантаций печени детям раннего возраста (И.Е. Цирульникова, Москва), доложены результаты по трансплантации сердца детям старшей группы коллективом ученых из Санкт-Петербурга (М.Л. Гордеев, М.А. Карпенко, Г.В. Николаев и др.). На том же заседании академик РАН С.В. Готье провел мастер-класс с многозначительным названием: «Решение нерешимой проблемы», в котором раскрыл секреты и поделился опытом выполнения билиарной реконструкции при трансплантации левого латерального сектора печени детям.

Заседание «Клинический опыт трансплантации: ключ с правом передачи» включало не только доклады, посвященные трансплантации сердца (Ю.П. Островский, Республика Беларусь), сочетанной трансплантации почки и поджелудочной железы (М.Ш. Хубутия, А.В. Пинчук, Москва), эндовидеоассистированным операциям при трансплантации почки (Д.В. Перлин, Москва), но и прямую трансляцию из операционной Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова, где участники съезда наблюдали в режиме реального времени выполнение операции родственной трансплантации почки, с комментарием профессора Я.Г. Мойсюка (Москва).

Рабочий момент заседания «Клинический опыт трансплантации: ключ с правом передачи»

Живой интерес участников вызвали заседания «Клинические наблюдения: необычные случаи, нестандартные решения», «Профилактика и лечение отторжения: по тонкому льду» и др.

Живой интерес участников к заседанию «Клинические наблюдения: необычные случаи, нестандартные решения»

Традиционно в работе съезда трансплантологов принимают участие ведущие зарубежные ученые и клиницисты.

На VII Всероссийском съезде трансплантологов с докладом «Роль трансплантации печени при лечении опухолей печени у детей» выступил руководитель отделения детской хирургии и трансплантации органов Детского мемориального оздоровительного института Республики Польша Петр Каличинский.

Профессор Петр Каличинский и академик РАН С.В. Готье в президиуме съезда

С докладами также выступили профессор кафедры прикладной химии и биотехнологии / молекулярной науки и технологии / биомедицинской инженерии университета Аджу Республики Южная Корея Ки Донг Пак («Инъекционные гидрогели для регенерации тканей»), профессор университетской клиники «Медицинский учебный госпиталь», хирург отделения общей хирургии и трансплантации печени Департамента трансплантации печени, гепатологии и инфекционных заболеваний университетской клиники в Пизе (Италия) Паоло Симоне («Современные проблемы иммуносупрессии при трансплантации печени. Фокус на функцию почек») и директор Центра трансплантации почки медицинского факультета Вашингтонского университета (США) Даниэль Бреннан («Современные подходы в выборе оптимального режима индукции иммуносупрессии»).

Сложившаяся традиция проведения совместных мероприятий Российского трансплантологического общества с международными профессиональными ассоциациями и обществами с участием ведущих зарубежных специалистов является одним из важных шагов на пути формирования позитивного имиджа, укрепления авторитета российской науки и отечественных ученых в мировом научном сообществе.

Регенеративная медицина тесно связана с проблемами трансплантологии. Следует отдать должное организаторам и участникам заседаний «Биоматериалы для тканевой инженерии и регенеративной медицины» и «Технологии тканевой инженерии и регенеративной медицины», на

Выступление профессора Ки Донг Пака (Южная Корея) на заседании «Биоматериалы для тканевой инженерии и регенеративной медицины»

которых были представлены яркие работы ведущих научных школ академика В.А. Ткачука, профессора А.В. Васильева, профессора В.И. Севастьянова и др. Доклады участников съезда из Москвы, Уфы, Новосибирска, Кемерова, Томска, Санкт-Петербурга отражали широкий спектр и современный уровень исследований в области тканевой инженерии, клеточных технологий. Лекция профессора Ки Донг Пака (Южная Корея) была посвящена технологическим аспектам регенеративной медицины.

Заседание, посвященное проблеме искусственных органов «Системы вспомогательного кровообращения: воплощение идеи», было посвящено отечественным системам вспомогательного кровообращения, в разработке и внедрении которых в последние годы достигнуты значительные успехи.

Отдельно следует отметить традиционную и очень важную составляющую съездов трансплантологов – пленарные заседания «Научные школы и новые имена». Лидеры научных школ, авторитетные ученые представляют профессиональному сообществу своих учеников.

Профессор Ю.П. Островский представил молодого ученого И.А. Гребенюка, который рассказал о результатах исследований хирургического лечения хронической сердечной недостаточности.

Выступление профессора Ю.П. Островского

Профессор А.О. Шевченко представил молодого ученого А.А. Насырову, выступившую с сообщением о результатах пилотного исследования, раскрывающего особенности ремоделирования периферических артерий у пациентов после трансплантации сердца.

Член-корреспондент РАН, профессор В.А. Порханов представил молодого ученого А.Ю. Попова, проанализировавшего результаты трансплантации трупной печени в Краевой клинической больнице № 1 города Краснодара.

Академик РАН С.В. Готье поздравляет А.Ю. Попова, участника конференции «Научные школы и новые имена»

Профессор В.И. Севастьянов представил молодого ученого Е.Г. Кузнецову, исследующую микроэмульсионные системы трансдермального переноса лекарственных веществ.

К открытию съезда были приурочены общественные акции, направленные на поддержание развития клинической трансплантологии в нашей стране. Почетным знаком «Дарящему часть себя» за гуманизм и самопожертвование были награждены пациенты, ставшие родственными донорами почки и части печени для спасения жизни своих родных. Почетные гости съезда приняли участие в торжественном открытии детской комнаты в клинике ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, где родители смогут находиться вместе со своими детьми, ожидающими операции.

В рамках съезда 28 мая в Олимпийском комплексе «Лужники» состоялась общественная акция «Люди ради людей» – дружеский футбольный матч

В рамках съезда 28 мая в Олимпийском комплексе «Лужники» состоялась общественная акция «Люди ради людей» – дружеский футбольный матч. На поле вышли игроки, перенесшие трансплантацию донорских органов – сердца, почки, печени. В составе команд также были люди (родственные доноры), отдавшие почку или часть печени ради спасения своих близких, врачи-трансплантологи, известные спортсмены, посчитавшие своим долгом поддержать тех, кто уже перенес трансплантацию, и тех наших сограждан, кто еще нуждается в спасении.

Одна из важнейших задач организуемых общественных акций – содействовать консолидации всех слоев общества в формировании ответственного отношения к вопросам донорства органов и трансплантации

Подводя итоги и оценивая результаты VII Всероссийского съезда, можно с уверенностью сказать, что всероссийские форумы трансплантологов – яркие и значимые события современной научной и медицинской жизни России. Более того, состоявшийся VII съезд трансплантологов послужил яркой демонстрацией преемственности и развития традиций, создаваемых и формулируемых на протяжении многих лет. Основателем традиции проведения всероссийских трансплантологических съездов является академик В.И. Шумаков.

Немного истории

I Всероссийский съезд по трансплантологии и искусственным органам состоялся 8–10 сентября 1998 г. по инициативе Валерия Ивановича Шумакова, директора НИИ трансплантологии и искусственных органов. Это событие имело принципиальное значение при становлении трансплантологии как самостоятельного направления отечественной медицинской науки и практики. Первый съезд трансплантологов позволил получить первый опыт масштабного системного анализа научных достижений в этой области, объединить отечественных ученых и практиков в профессиональное сообщество, предоставил возможность живого общения и обмена опытом. В 2002 и 2005 гг. состоялись II и III всероссийские съезды по трансплантологии и искусственным органам, ставшие неотъемлемыми компонентами фундамента, заложенного В.И. Шумаковым в основание современной российской трансплантологии.

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

Новое руководство института трансплантологии в лице директора Сергея Владимировича Готье, опираясь на поддержку коллектива, не только не утратило начавших формироваться традиций, но укрепило и творчески развивало их все последующие годы.

Шумаковские чтения

Но вернемся к истории. Каждый очередной съезд – это возможность представить современное состояние и новейшие достижения в области науки и практики; произвести анализ организационных и правовых аспектов донорства и реализации трансплантологической помощи населению нашей страны на очередном этапе развития.

В рамках V съезда были организованы Первые Шумаковские чтения, посвященные сердечно-сосудистой хирургии и трансплантации сердца. Впоследствии проведение Шумаковских чтений стало традицией.

Всероссийская конференция с международным участием «Вторые Шумаковские чтения» состоялась 9 ноября 2011 г., в день 80-летия со дня рождения Валерия Ивановича Шумакова. Она была посвящена основным направлениям трансплантологии и искусственных органов, сердечно-сосудистой хирургии, в развитие которых Валерий Иванович вложил так много души, интеллекта, энергии. В Шумаковских чтениях приняли участие ученики и последователи В.И. Шумакова – все те, кому он предоставлял свободу творческого поиска, зажигал, закалял и формировал их профессионализм, обладая необычайной целеустремленностью, широтой научного видения, неукротимой волей и энергией. В сквере Федерального научного центра трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова состоялось торжественное открытие памятника академику В.И. Шумакову.

Торжественное открытие памятника академику В.И. Шумакову

III Шумаковские чтения проводились в мае 2013 г. в рамках Первого российского национального конгресса «Трансплантация и донорство органов» и были посвящены вопросам трансплантации органов в регионах России. Среди участников чтений – специалисты из Москвы, Санкт-Петербурга, Краснодара, Волгограда, Н. Новгорода, Иркутска, Самары, Кемерова. Обсуждались проблемы доступности и улучшения результатов трансплантации, оценки качества жизни больных с пересаженными органами.

I Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов»

Первый Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов» состоялся 29–31 мая 2013 г.

Обширная программа Конгресса включала ряд конференций, каждая из которых представляла самостоятельный интерес и значение, а все вместе они позволили составить общую картину состояния, проблем и перспектив развития трансплантологии в нашей стране. В рамках Конгресса прошли IV Всероссийская конференция «Донорство органов – ключевая проблема трансплантологии», I Российский образовательный форум «Трансплантология и донорство органов в программах высшего и дополнительного профессионального образования», III Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена», конференция «Регенеративная медицина и клеточные технологии», III Шумаковские чтения, лекции, «круглые столы»; состоялось 2-е совещание рабочей группы первого многоцентрового научно-клинического исследования «БАЗАЛЬТ» (Биомаркеры в прогнозировании ближайших и отдаленных результатов трансплантации сердца), организованного Российским трансплантологическим обществом.

Участие зарубежных ученых в съездах трансплантологов

Одной из важнейших задач является содействие укреплению международного сотрудничества в области трансплантологии. Участие ведущих зарубежных ученых в работе всероссийских трансплантологических съездов стало еще одной традицией. Безусловно, интересным и полезным является опыт проведения первых совместных заседаний Европейского общества трансплантации органов (ESOT) и Российского трансплантологического общества в рамках V съезда. В работе VI съезда приняли участие президент Всемирного трансплантологического общества Френсис Дельмонико (США), секретарь Совета Всемирного трансплантологического общества Габриэль Данович (США), ведущие ученые из Германии, Португалии, Чехии. Результатом этого участия явились не только яркие лекции лидеров мирового научного сообщества, посвященные организационным, этическим и медицинским проблемам трансплантологии, но и рабочие встречи с участием руководителей Министерства здравоохранения, ведущих специалистов и организаторов здравоохранения с обсуждением вопросов донорства и трансплантации органов.

На Первом Российском национальном конгрессе трансплантологов выступил с лекцией «Донорская служба: организационные аспекты» медицинский советник по трансплантологии Всемирной организации здравоохранения Жозе Р. Нуньес. С лекциями также выступили профессор

кафедры хирургических болезней факультета общей хирургии и трансплантации органов Римского католического университета (Италия) Габриэль Сганга («Грибковые инфекции у пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию») и руководитель отделения трансплантационной и клинической иммунологии клиники университета г. Тур (Франция) Ивон Лебранчу («Выбор тактики индукционной терапии при трансплантации почки у реципиентов высокого риска»).

Научные школы и новые имена

Конференция молодых ученых «Научные школы и новые имена» – еще одна традиция. Молодым ученым предоставляется возможность доложить результаты своих работ на таком авторитетном форуме, как Всероссийский съезд трансплантологов. Лидеры научных школ могут рекомендовать своих учеников профессиональному сообществу. Опыт состоявшихся четырех подобных конференций показал эффективность и полезность такой формы подготовки научных кадров.

В 2014 г. исполнилось 45 лет со дня основания ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России. В честь этого события прошли IV Шумаковские чтения, главной темой которых стало обсуждение достижений и проблем в области трансплантации сердца. Это торжественное мероприятие – еще один этап в сохранении традиций, связанных с проведением всероссийских съездов трансплантологов.

III. ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2014 ГОДУ (VII сообщение регистра Российского трансплантологического общества)

ДОНОРСТВО И ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2014 ГОДУ (VII сообщение регистра Российского трансплантологического общества)

Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.

ВВЕДЕНИЕ

Мониторинг состояния и перспектив развития донорства и трансплантации органов в России в форме регистра проводится под эгидой Профильной комиссии по трансплантологии Минздрава России и Российского трансплантологического общества, предыдущие сообщения были опубликованы в 2009–2014 гг. [1–6].

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

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

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

ЦЕНТРЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ И ЛИСТЫ ОЖИДАНИЯ

На 31 декабря 2014 г. в РФ функционировали 44 центра трансплантации органов, из которых трансплантация почки осуществлялась в 36, трансплантация печени – в 14, трансплантация сердца – в 9, трансплантация поджелудочной железы – в 5, трансплантация легких – в 3.

Из 44 центров трансплантации 17 – учреждения федерального подчинения, в том числе 3 учреждения Федерального агентства научных орга-

Таблица 1

Участники регистра Российского трансплантологического общества

Мойсюк Я.Г. Шевченко А.О. Мещерин С.С. Головинский С.В.	ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва
Арзуманов С.В.	ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена» МЗ РФ, НИИ урологии им. Н.А. Лопаткина, Москва
Валов А.Л.	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва
Каабак М.М. Филин А.В.	ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского», Москва
Восканян С.Э. Губарев К.К.	ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва
Шаталов К.В.	ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева», Москва
Бирюкова Л.С. Нестеренко И.В.	ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ, Москва
Пинчук А.В. Виноградов В.Л.	ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, Москва
Нестеренко И.В.	ГБУЗ «Городская клиническая больница № 7» ДЗМ, Москва
Минина М.Г.	ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» ДЗ г. Москвы (Московский координационный центр органного донорства)
Бельских Л.В.	ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва
Милосердов И.А.	ФГБУЗ «Клиническая больница № 119» ФМБА России, Московская область
Солошенко А.В.	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород
Платонов В.С.	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж
Медведев В.Л.	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар
Дурлештер В.М.	МБУЗ «Городская больница № 2 КМЛДО», Краснодар
Перлин Д.В. Сапожников А.Д.	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский
Перепечай В.А.	ФГБУЗ «Южный окружной медицинский центр» ФМБА России, Ростов-на-Дону
Кострыкин М.Ю.	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону

Продолжение табл. 1

Жеребцов Ф.К.	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Николаев Г.В.	ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Ананьев А.Н.	ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург
Резник О.Н. Логинов И.В.	ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург
Гринев К.М. Ищук О.И.	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург
Петров В.С.	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск
Чернявский А.М.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск
Быков А.Ю.	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск
Попов В.А.	ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, Кемерово
Сальмайер А.А.	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово
Ежикеев С.А.	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск
Семченко С.Б.	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск
Григоров Е.В.	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул
Евдокимов Д.П.	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск
Климушева Н.Ф. Серебряков И.Ю.	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург
Барышников А.А.	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск
Яремин Б.И. Губанов Е.С.	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара
Россоловский А.Н.	ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов
Блувштейн Г.А. Петрова Н.Ю.	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов
Загайнов В.Е. Васенин С.А.	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород

Окончание табл. 1

Галеев Ш.Р.	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань
Курбангулов И.Р.	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа
Шмаков Ш.С.	ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница», Уфа
Олейник Б.А.	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа
Селютин А.А.	МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург

низаций, 3 государственных медицинских университета; 27 – учреждения подчинения субъектов РФ.

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

Действующие в РФ центры трансплантации (44) расположены в 24 субъектах РФ с населением 84,9 млн человек, из них в Москве и Московской области работает 11 центров, в Санкт-Петербурге и Ленинградской области – 5 центров.

61 субъект РФ с населением 61,1 млн человек не имеет на своей территории работающих центров трансплантации, несмотря на существующие потребность в трансплантации органов (прежде всего пациенты на диализе) и неиспользованный донорский ресурс [7].

В листе ожидания трансплантации почки в течение 2014 г. состояли 4636 потенциальных реципиентов, то есть около 16% от общего числа (29 000) пациентов, получающих лечение гемо- и перитонеальным диализом. Из них 1594 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации почки состояли 1945 потенциальных реципиентов (41,9% от листа ожидания в стране). Показатель смертности в период ожидания трансплантации почки в РФ в 2014 г. составил 1,2% (56 пациентов). В сравнении с 2013 г. (4172) лист ожидания трансплантации почки увеличился на 464 человека (+11,1%).

В листе ожидания трансплантации печени в течение 2014 г. состояли 949 потенциальных реципиентов, из них 307 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации печени состояли 310 потенциальных реципиентов (32,7% от листа ожидания в стране). Показатель смертности в период ожидания трансплантации печени в РФ в 2014 г. составил 9,3% (88 пациентов). В сравнении с 2013 г. (765) лист ожидания трансплантации печени увеличился на 184 человека (+24,0%).

Таблица 2

Центры трансплантации на территории РФ, листы ожидания

Федеральный округ, регион, численность населения в 2014 г. (млн чел.)* Вид трансплантации		ЦФО				ЮФО		СЗФО	СФО							УФО		ПФО						ДФО
	Российская Федерация	Москва и Московская область	Белгородская область	Воронежская область	Краснодарский край	Волгоградская область	Санкт-Петербург и Ленинградская область	Новосибирская область	Кемеровская область	Иркутская область	Омская область	Алтайский край	Красноярский край	Свердловская область	Челябинская область	Самарская область	Саратовская область	Нижегородская область	Республика Татарстан	Республика Башкортостан	Оренбургская область	Республика Саха (Якутия)	
	146,0	12,1	1,5	2,3	5,4	2,6	5,1	2,7	2,7	2,4	2,0	2,4	2,9	4,3	3,5	3,2	2,5	3,3	3,8	4,1	2,0	1,0
		7,1					1,8															
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
ПОЧКА																						
Число центров трансплантации	**36**	9	1	1	1	1	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2014 г.	**1594**	748	9	24	71	35	77	27	61	14	28	34	11	64	120	105	45	15	24	39	36	7
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2014 г.	**4636**	1945	45	112	104	127	349	104	152	28	82	80	40	266	139	287	118	116	269	210	36	27

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Количество пациентов в ЛО на 31.12.14 г.	**3266**	1155	40	86	164	87	292	90	65	14	85	60	35	185	120	147	110	116	196	163	36	20
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2014 г.	**56**	12	0	2	0	4	3	1	2	0	4	0	0	3	0	3	0	6	9	6	0	1
ПЕЧЕНЬ																						
Число центров трансплантации	**14**	4	1	0	2	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2014 г.	**307**	157	14	0	21	0	20	20	0	0	0	0	0	43	0	0	0	15	0	17	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2014 г.	**949**	310	77	0	31	0	125	71	0	0	0	0	0	150	0	0	0	116	0	64	0	5
Количество пациентов в ЛО на 31.12.14 г.	**635**	166	69	0	23	0	102	41	0	0	0	0	0	61	0	0	0	116	0	53	0	4
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2014 г.	**88**	27	4	0	3	0	6	5	0	0	0	0	0	28	0	0	0	6	0	8	0	1
СЕРДЦЕ																						
Число центров трансплантации	**9**	3	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2014 г.	**214**	130	8	0	9	0	23	8	18	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	7	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2014 г.	**428**	218	18	0	28	0	30	43	29	0	0	0	0	45	0	0	0	0	0	17	0	0
Количество пациентов в ЛО на 31.12.14 г.	**186**	55	9	0	17	0	9	33	17	0	0	0	0	33	0	0	0	0	0	13	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2014 г.	**45**	20	1	0	2	0	7	3	3	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	1	0	0
ПОДЖЕЛУДОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА																						
Число центров трансплантации	**5**	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2014 г.	**25**	19	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2014 г.	**82**	76	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Количество пациентов в ЛО на 31.12.14 г.	**55**	49	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2014 г.	**0**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ЛЕГКИЕ																						
Число центров трансплантации	**3**	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов, включенных в ЛО впервые в течение 2014 г.	**25**	24	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Общее количество пациентов в ЛО в течение 2014 г.	**50**	48	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО на 31.12.14 г.	**33**	30	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Количество пациентов в ЛО, умерших в течение 2014 г.	**10**	8	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. * http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/demo/prPopul.xls.

В листе ожидания трансплантации сердца в течение 2014 г. состояло 428 потенциальных реципиентов, из них 214 были включены в лист ожидания впервые. В Москве и Московской области в листе ожидания трансплантации сердца состояло 218 потенциальных реципиентов (50,9% от листа ожидания в стране). Показатель смертности в период ожидания трансплантации сердца в России составил 10,5% (45 пациентов). В сравнении с 2013 г. (402) лист ожидания трансплантации сердца увеличился на 26 человек (6,5%).

В 2014 г. всего было выполнено 1522 трансплантации органов, или 10,4 на 1 млн населения (в 2013 г. – 1400, или 9,8 на 1 млн населения), табл. 3 и 4.

По данным Федерального регистра по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи, в 2014 г. за счет средств федерального бюджета и бюджетов субъектов РФ в рамках ежегодного государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» было выполнено 1310 (86,1%) трансплантаций

Таблица 3

Донорство и трансплантация органов в РФ в 2014 г.

	Количество (абс.)	Показатель на 1 млн населения*
Донорство органов		
Всего доноров органов	781	
Посмертные доноры	465	3,2
Живые (родственные) доноры	316	2,2
Трансплантация органов		
Всего пересажено органов, *из них несовершеннолетним*	1522 152	10,4
Почка, в т. ч. трупная от живого донора *из них несовершеннолетним*	1026 836 190 73	7,0
Печень, в т. ч. трупная от живого донора *из них несовершеннолетним*	302 176 126 76	2,1
Сердце *из них несовершеннолетним*	162 3	1,1
Поджелудочная железа	19	0,1
Легкие	12	0,1
Комплекс «сердце–легкие»		
Тонкая кишка	1	0,1

Примечание. * Численность населения РФ в 2014 г. – 146,0 млн чел. (http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/demo/prPopul.xls), в том числе Крым – 2,3 млн.

Таблица 4

Трансплантационная активность центров РФ в 2014 г.

Госзадание по ВМП	Центр трансплантации, регион, федеральный округ	Всего	Почка всего	Почка трупная	Почка родственная	Печень всего	Печень трупная	Печень родственная	Сердце	Поджелудочная железа	Легкие	Комплекс «сердце–легкие»	Тонкая кишка
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
+	ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ЦФО	342	131	81	50	103	39	64	96	6	5		1
+	ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А. Герцена» Минздрава России, НИИ урологии им. Н.А. Лопаткина, Москва, ЦФО	48	48	22	26								
+	ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва, ЦФО	31	31	31									
+	ФГНБУ «Российский научный центр хирургии им. ак. Б.В. Петровского», Москва, ЦФО	67	57	33	24	7	1	6		3			
+	ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, ЦФО	47				47	9	38					
+	ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева», Москва, ЦФО	5							5				
+	ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ, Москва, ЦФО	8	8	5	3								

Продолжение табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
+	ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» ДЗМ, Москва, ЦФО	200	131	127	4	45	44	1	9	9	6		
+	ГБУЗ «Городская клиническая больница № 7» ДЗМ, Москва, ЦФО	25	25	25									
–	ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, ЦФО	54	54	54									
+	ФГБУЗ «Клиническая больница № 119» ФМБА России, Московская область, ЦФО	27	27	14	13								
+	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород, ЦФО	8	5	4	1	3	3						
+	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж, ЦФО	10	10	10									
+	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар, ЮФО	75	39	39		19	19		15	1	1		
+	МБУЗ «Городская больница № 2 КМЛДО», Краснодар, ЮФО	3				3	3						
+	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский, ЮФО	34	34	32	2								
+	ФГБУЗ «Южный окружной медицинский центр» ФМБА России, Ростов-на-Дону, ЮФО	3	3		3								
–	ГБУ РО «Ростовская областная клиническая больница», Ростов-на-Дону, ЮФО	1	1		1								
+	ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	12				12	12						
+	ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	15							15				

Продолжение табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
+	ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» МЗ РФ, Санкт-Петербург, СЗФО	39	39	33	6								
+	ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», Санкт-Петербург, СЗФО	7	7	7									
+	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, СЗФО	17	17	17									
+	ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины», Якутск, ДФО	6	3		3	3		3					
+	ФГБУ «Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, СФО	8	1	1					7				
+	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, СФО	50	24	18	6	26	14	12					
+	ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, СФО	7							7				
+	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово, СФО	60	57	57		3	3						
+	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск, СФО	17	17	15	2								
+	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск, СФО	25	25	24	1								
+	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул, СФО	15	15	11	4								
+	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск, СФО	5	5	5									

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
+	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург, УФО	56	33	33		18	18		5				
+	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, УФО	20	20	19	1								
+	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара, ПФО	40	40	40									
+	ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, Саратов, ПФО	8	8		8								
+	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов, ПФО	10	10	10									
+	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, ПФО	40	30	18	12	10	8	2					
+	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань, ПФО	20	20	12	8								
+	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, ПФО	43	40	38	2	3	3						
–	ГБУЗ «Республиканский кардиологический диспансер», Уфа, ПФО	3							3				
+	ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница», Уфа, ПФО	1	1		1								
–	МБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1», Оренбург, ПФО	10	10	1	9								
	ИТОГО в РФ	1522	1026	836	190	302	176	126	162	19	12	0	1

органов. Государственное задание является основным механизмом финансирования трансплантаций органов в России, его доля в общем числе трансплантаций органов с 2010 г. увеличилась на 27,9% при увеличении в абсолютных значениях на 516 (+65%) трансплантаций органов, рис. 1.

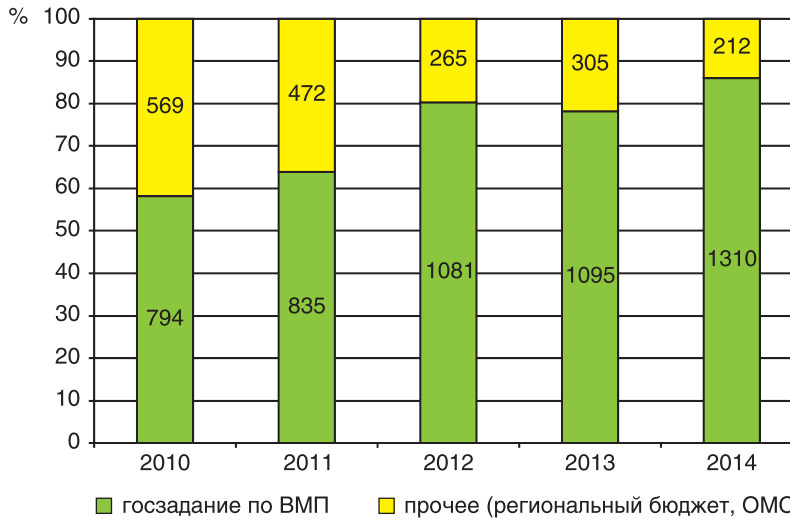


Рис. 1. **Финансирование трансплантаций органов в РФ в 2010–2014 гг.**

В выполнении государственного задания на оказание высокотехнологичной медицинской помощи по профилю «трансплантация» в 2014 г. участвовали 41 (93%) из 44 центров трансплантации (табл. 4).

ОРГАННОЕ ДОНОРСТВО

В 2014 г. донорские программы осуществлялись в 21 (из 85) субъекте РФ с населением 77,7 млн человек, новая донорская программа была организована в Красноярском крае (КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск).

Число медицинских организаций, участвующих в донорских программах (донорские стационары), в 2014 г. составило 243 (в 2013 г. – 158) и широко варьировало по регионам – от 1 до 56. Наибольшее число медицинских организаций, имеющих статус донорских стационаров, функционирует в Московской области (56), в системе ФМБА России (28), в Нижегородской области (21), в Белгородской области (26), в Москве (17).

Число эффективных доноров в 2014 г. составило 465, или 3,2 на 1 млн населения, это больше на 45 доноров, чем в 2013 г. (420), но меньше, чем в «рекордном» 2010 г. (487), табл. 5 и 6. На долю Москвы и Москов-

Таблица 5

Донорская активность в регионах РФ в 2014 г.

Регион	Центр координации органного донорства / центр трансплантации, регион	Население (млн)	Число доноров	Эффективные доноры (абс., на 1 млн населения)		В т. ч. с диагнозом «смерть мозга» (абс., %)		В т. ч. мультиорганные доноры (абс., %)		Всего заготовлено и пересажено органов	В т. ч. заготовлено и пересажено почек	Коэффициент «количество органов / количество доноров»	Процент пересаженных почек
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Москва	Московский координационный центр органного донорства, Москва (ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина» ДЗ г. Москвы)	12,1	17	151	12,5	122	80,8	88	58,3	445	279	2,9	92,4
Московская область	ГБУ «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва; ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва; ФГБУ «Российская детская клиническая больница» МЗ РФ, Москва	7,1	56	51	7,2	35	68,6	30	58,8	143	94	2,8	92,2
Белгородская область	ГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа», Белгород	1,5	26	2	1,3	2	100,0	2	100,0	6	4	3,0	100,0

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Воронежская область	БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница № 1», Воронеж	2,3	3	5	2,2	5	100,0	3	60,0	16	10	3,2	100,0
Краснодарский край	ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» ДЗ КК, Краснодар	5,4	2	23	4,3	23	100,0	22	95,7	78	39	3,4	84,8
Волгоградская область	ГБУЗ «Волжский областной уронефрологический центр», Волжский	2,6	15	18	6,9	11	61,1	0	0,0	32	32	1,8	88,9
Санкт-Петербург	Центр органного и тканевого донорства, Санкт-Петербург (ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе»)	5,1	13	23	4,5	23	100,0	18	78,3	65	40	2,8	87,0
Ленинградская область	ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург	1,8	1	9	5,0	9	100,0	6	66,7	19	17	2,1	94,4
Новосибирская область	ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск	2,7	10	11	4,1	10	90,9	9	81,8	32	20	2,9	90,9
Кемеровская область	ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово	2,7	11	31	11,5	13	41,9	8	25,8	70	57	2,3	91,9
Иркутская область	ГБУЗ «Иркутская областная клиническая больница», Иркутск	2,4	3	9	3,8	4	44,4	0	0,0	15	15	1,7	83,3
Омская область	БУЗОО «Омская городская клиническая больница № 1 им. Кабанова А.Н.», Омск	2,0	1	16	8,0	0	0,0	0	0,0	24	24	1,5	75,0
Алтайский край	КГБУЗ «Краевая клиническая больница», Барнаул	2,4	1	5	2,1	5	100,0	5	100,0	15	10	3,0	100,0

Окончание табл. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Красноярский край	КГБУ «Красноярская клиническая больница», Красноярск	2,9	1	3	1,0	3	100,0	0	0,0	5	5	1,7	83,3
Свердловская область	ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург	4,3	5	23	5,3	23	100,0	17	73,9	50	32	2,2	69,6
Челябинская область	ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск	3,5	7	10	2,9	10	100,0	5	50,0	25	20	2,5	100,0
Самарская область	ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Самара	3,2	5	20	6,3	7	35,0	0	0,0	40	40	2,0	100,0
Саратовская область	ГУЗ «Областная клиническая больница», Саратов	2,5	1	7	2,8	7	100,0	0	0,0	10	10	1,4	71,4
Нижегородская область	ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород	3,3	21	12	3,6	12	100,0	8	66,7	25	17	2,1	70,8
Республика Татарстан	ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ РТ», Казань	3,8	12	6	1,6	6	100,0	0	0,0	12	12	2,0	100,0
Республика Башкортостан	ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа	4,1	4	19	4,6	19	100,0	4	21,1	44	38	2,3	100,0
Ведомственная программа ФМБА России	ФГБУ ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва	–	28	11	–	10	90,9	10	90,9	34	21	3,1	95,5
	ИТОГО в РФ	146,0	243	465	3,2	359	82,4	235	46,7	1205	836	2,6	89,9

Таблица 6

Динамика посмертного донорства (числа эффективных доноров) в период 2006–2014 гг.

Регион	2006	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2006–2014
	Число эффективных доноров	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Число эффективных доноров	Изменение за год (абс.)	Изменение за период наблюдения (абс.)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Москва	87	126	+39	135	+9	136	+1	151	+15	135	–16	111	–24	125	+14	151	+26	+64
Московская область	24	45	+21	59	+14	52	–7	71	+19	82	+11	61	–21	56	–5	51	–5	+27
Белгородская область		2	+2	3	+1	2	–1	5	+3	6	+1	3	–3	1	–2	2	+1	+2
Воронежская область	6	2	–4	8	+6	2	–6	0	–2	1	+1	6	+5	6	0	5	–1	–1
Краснодарский край						3	+3	39	+36	52	+13	42	–10	41	–1	23	–18	+23
Волгоградская область	5	0	–5	11	+11	15	+4	16	+1	17	+1	19	+2	15	–2	18	+3	+13
Санкт-Петербург	30	45	+15	47	+2	47	0	41	–6	34	–7	22	–12	13	–9	23	+10	–7
Ленинградская область	12	8	–4	11	+3	11	0	13	+2	10	–3	10	0	10	0	9	–1	–3

Окончание табл. 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Новосибирская область	17	11	–6	18	+7	29	+11	35	+6	25	–10	20	–4	17	–3	11	–6	–6
Кемеровская область	16	13	–3	18	+5	18	0	22	+4	12	–10	26	+14	26	0	31	+5	+15
Иркутская область				4	+4	6	+2	10	+4	9	–1	8	–1	6	–2	9	+3	+9
Омская область	10	15	+5	13	–2	19	+6	19	0	14	–5	11	–3	14	+3	16	+2	+6
Алтайский край														3	+3	5	+2	+5
Красноярский край																3	+3	+3
Свердловская область	14	13	–1	12	–1	13	+1	14	+1	15	+1	14	–1	18	+4	23	+5	+9
Челябинская область								6	+6	2	–4	7	+5	6	–1	10	+4	+10
Самарская область	4	17	+13	24	+7	18	–6	20	+2	21	+1	19	–2	21	+2	20	–1	+16
Саратовская область														4	+4	7	+3	+7
Нижегородская область						7	+7	11	+4	12	+1	10	–2	8	–2	12	+4	+5
Республика Татарстан		3	+3	1	–2	3	+2	12	+9	16	+4	9	+7	6	–3	6	0	+3
Республика Башкортостан								2	+2	7	+5	14	+7	18	+4	19	+1	+19
ФМБА России														6	+6	11	+5	+11
ИТОГО в РФ	225	300	+75	364	+64	381	+17	487	+106	470	–17	412	–58	420	+8	465	+45	+240

ской области в 2014 г. приходилось 43,4% (202) эффективных доноров (в 2013 г. – 43,1%, 181).

Донорская активность в расчете на численность населения регионов, реализующих донорские программы (77,7 млн), составила 6,0. Наиболее высокие показатели донорской активности наблюдались в Москве (12,5), Кемеровской области (11,5), Омской области (8,0), Московской области (7,2), Волгоградской области (6,9), Самарской области (6,3). Низкий уровень донорской активности в 2014 г. показали Красноярский край (1,0), Белгородская область (1,3), Республика Татарстан (1,6), Алтайский край (2,1), Воронежская область (2,2).

В 2014 г. донорские программы регионов показывали разнонаправленную динамику (табл. 7).

Таблица 7

Рейтинг регионов по донорской активности в 2014 г.

Субъект РФ (Регион)	Население, млн	Донорство на млн населения	
		2013 г.	2014 г.
Москва	12,1	10,4	12,5
Кемеровская область	2,7	9,6	11,5
Омская область	2,0	7,0	8,0
Московская область	7,1	8,0	7,2
Волгоградская область	2,6	5,8	6,9
Самарская область	3,2	6,6	6,3
Свердловская область	4,3	4,2	5,3
Ленинградская область	1,8	5,9	5,0
Республика Башкортостан	4,1	4,4	4,6
Санкт-Петербург	5,1	2,6	4,5
Краснодарский край	5,4	7,7	4,3
Новосибирская область	2,7	6,3	4,1
Иркутская область	2,4	2,5	3,8
Алтайский край	2,4	1,3	3,8
Нижегородская область	3,3	2,4	3,6
Челябинская область	3,5	1,7	2,9
Саратовская область	2,5	1,6	2,8
Воронежская область	2,3	2,6	2,2
Республика Татарстан	3,8	1,6	1,6
Белгородская область	1,5	0,7	1,3
Красноярский край	2,9	–	1,0
ИТОГО:			
21 регион	77,7	5,6 (420)	6,0 (465)
РФ (85 регионов)	146,0	2,9 (420)	3,2 (465)

В 15 регионах число эффективных доноров в 2014 г. увеличилось; суммарно прирост донорства составил +77 посмертных донора, в том числе в Москве +26, в Санкт-Петербурге +10, в Кемеровской области +5, в Свердловской области +5 посмертных доноров. Красноярский край – новая донорская программа (+3 донора). 11 эффективных доноров (в 2013 г. – 6) было получено в рамках реализации ведомственной программы органного донорства ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (Москва).

В 6 регионах число эффективных доноров в 2014 г. уменьшилось; суммарно снижение органного донорства составило –32 посмертных донора, из них снижение в Краснодарском крае составило –18, в Новосибирской области –6, в Московской области –5 посмертных доноров.

В 2014 г. продолжилось расширение практики констатации смерти мозга. Абсолютное число эффективных доноров с диагнозом «смерть мозга» увеличилось до 359 (в 2013 г. – 304), а их доля в общем пуле эффективных доноров составила 77,2% (в 2012 г. – 72,4%), рис. 2.

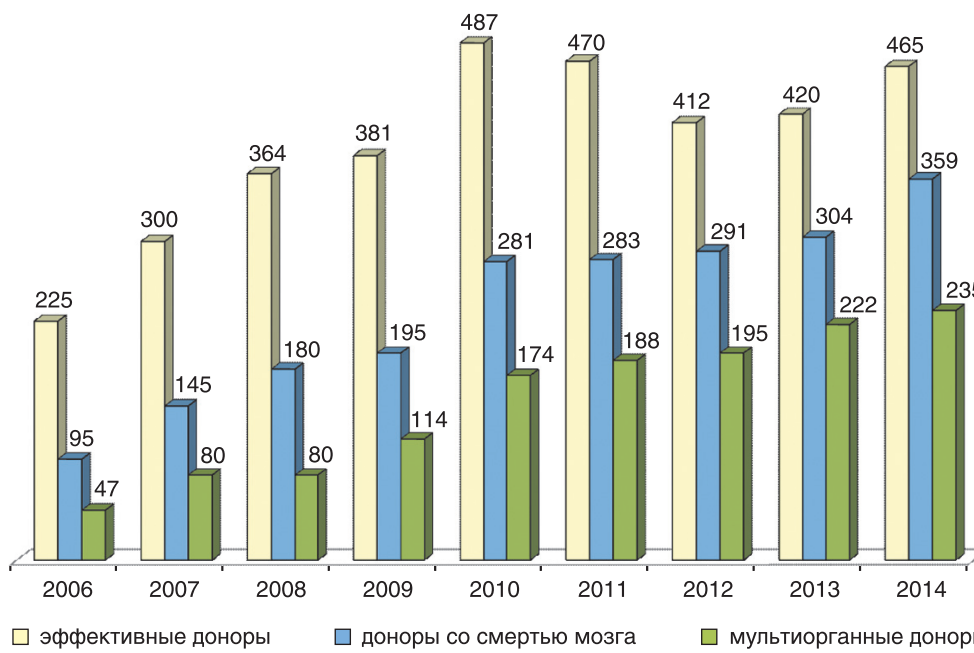


Рис. 2. **Структура эффективных доноров органов в РФ в 2006–2014 гг.**

По регионам этот показатель широко варьировал от 0 до 100%, при этом 12 донорских программ работали только с донорами с диагнозом «смерть мозга» (100%), в том числе новая донорская программа в Красноярском крае (3 донора с ДСМ). Абсолютное число эффективных до-

норов с ДСМ увеличилось в 15 регионах, в том числе в Москве +21, в Санкт-Петербурге +14, в Кемеровской области +9, в Свердловской области +5, в Нижегородской области +5. Снижение числа эффективных доноров с ДСМ в 2014 г. зафиксировано в 5 регионах, в том числе снижение в Краснодарском крае –18, в Новосибирской области –5.

В 2014 г. всего было выполнено 235 мультиорганных изъятий, что больше, чем в 2013 г. (222); доля мультиорганных изъятий при этом составила 50,5% (2013 г. – 52,9%).

Абсолютное число мультиорганных изъятий увеличилось в 8 регионах, в том числе в Санкт-Петербурге +10, в Кемеровской области +3, в Свердловской области +5, в Челябинской области +4. Снижение числа мультиорганных изъятий в 2014 г. зафиксировано в 6 регионах, в том числе в Краснодарском крае –5, в Ленинградской области –4, Новосибирской области –5, в Республике Татарстан –3.

Центр органного донорства ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России выполнил в 2014 г. 10 мультиорганных изъятий при общем числе эффективных доноров –11.

Вклад донорских программ Москвы и Московской области по числу мультиорганных доноров составил 118, или 50,2% от общего числа 235 мультиорганных доноров в стране.

Среднее количество органов, полученных от одного донора, составило 2,6 (в 2013 г. – 2,6). Лучшие значения этого показателя наблюдались, как и прежде, в регионах, где проводится трансплантация экстраренальных органов и (или) осуществляется межрегиональная координация: Краснодарский край (3,4), Воронежская область (3,2), Белгородская область (3,0), Алтайский край (3,0), Москва (2,9), Новосибирская область (2,9), Санкт-Петербург (2,8), Московская область (2,8).

Низкий показатель – менее 2,0 – зафиксирован в Волгоградской области (1,8), Иркутской области (1,7), Омской области (1,5), Саратовской области (1,4) – в регионах, где выполняется только лишь пересадка почки и отсутствует межрегиональная координация.

В 2014 г. показатель использования донорских почек составил 89,9% от количества изъятых (в 2013 г. – 88,9%). В 12 регионах этот показатель находился в оптимальном диапазоне значений 90–100%, в пяти – между 80–90% и в четырех программах составил менее 80% (Омская область – 75,0%, Свердловская область – 69,6%, Саратовская область – 71,4%, Нижегородская область – 70,8%).

В 2014 г. число изъятий органов от живых родственных доноров составило 316, или 40,4% от общего числа изъятий (в 2013 г. – 307; 42,2%).

Таким образом, в 2014 г. донорская активность в РФ (465 эффективных доноров) увеличилась на 45 эффективных доноров (+10,7%) по сравнению с 2013 г. (420) и приближается к уровню 2011 г. (470), но с более высокой эффективностью донорских программ.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ

В 2014 г. всего было выполнено 1026 трансплантаций почки (7,0 на 1 млн населения), что больше, чем в 2013 г. (935), в 2012 г. (941), и немногим меньше числа трансплантаций почки, сделанных в «рекордном» для страны 2010 г. – 1037 (7,3 на 1 млн населения), рис. 3.

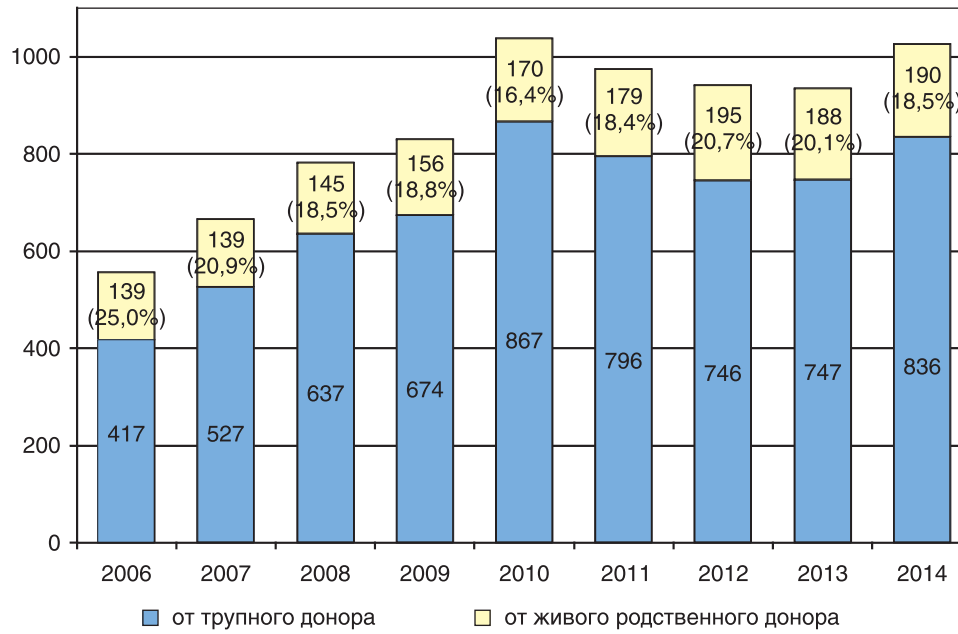


Рис. 3. **Трансплантация почки в РФ в 2006–2014 гг.**

Число трансплантаций трупной почки в 2014 г. увеличилось до 836 (5,7 на 1 млн населения), что на 89 (+11,9%) трансплантаций больше, чем в 2013 г. – 747 (5,2 на 1 млн населения). Число трансплантаций почки от живого родственного донора составило 190, оставаясь на уровне 2013–2012 гг. (188–195).

В 2014 г. были открыты 3 новые программы трансплантации почки. Сразу в двух учреждениях в Ростовской области – в Южном окружном медицинском центре ФМБА России (г. Ростов-на-Дону) и в Ростовской областной клинической больнице (г. Ростов-на-Дону) были сделаны первые родственные трансплантации почки. Организация центров трансплантации почки в этом регионе с учетом географии, экономики, инфраструктуры здравоохранения и донорского ресурса в перспективе может обеспечить медицинской помощью по трансплантации почки население не только самой Ростовской области, но и других регионов СКФО и

ЮФО, где имеется такая потребность, но трансплантации почки не выполняются.

Еще один центр трансплантации почки заработал на базе Красноярской клинической больницы (г. Красноярск), в 2014 г. в ней было выполнено 5 трансплантаций почки от посмертного донора.

Активность центров трансплантации почки в 2014 г. традиционно широко варьировала – от 1 до 131 операции в год. В 2014 г. 5 центров выполнили более 50 операций каждый, от 30 до 50 операций за год выполнили 9 центров, еще 10 центров выполнили от 15 до 30 операций, остальные 12 центров – менее 15 трансплантаций почки (рис. 4).

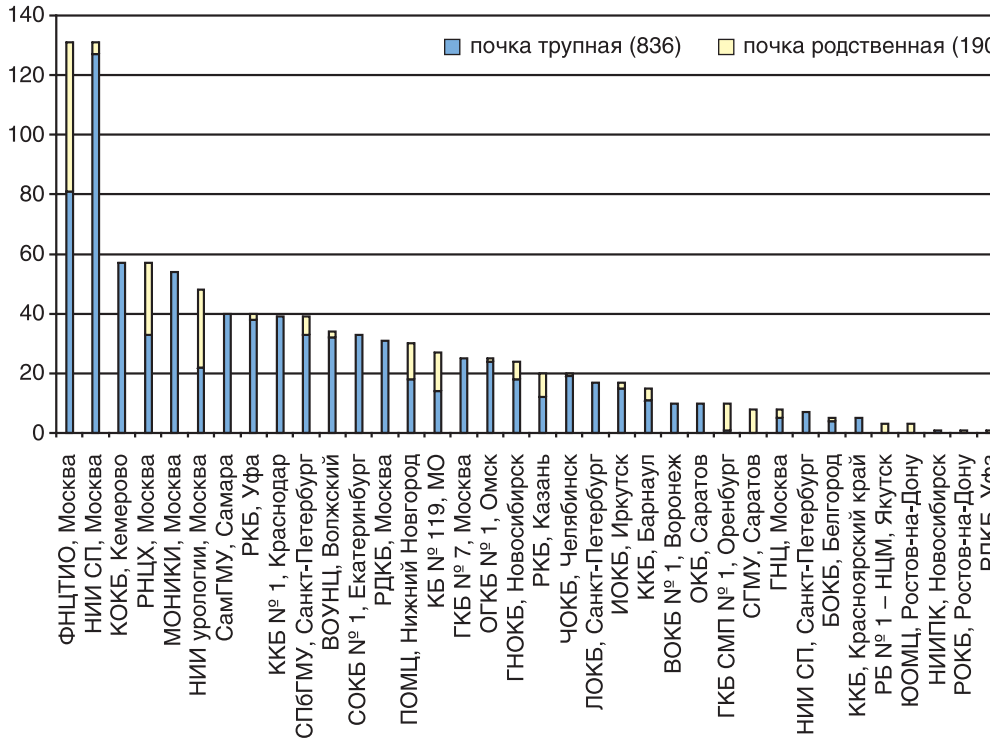


Рис. 4. **Трансплантация почки в РФ в 2014 г. (количество операций по центрам трансплантации почки)**

На долю центров трансплантации почки Москвы и Московской области, а всего их 9, приходится половина – 49,9% (512) от всех трансплантаций почки, выполняемых в стране (в 2013 г. – 460, или 49,2%). Из них 4 центра за год выполнили 50 и более трансплантаций почки – это ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (131), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (131), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (57) и МОНИКИ им. М.Ф. Вла-

димирского (54). Еще 2 выполнили от 30 до 50 трансплантаций почки: НИИ урологии (48), РДКБ (31).

В 2014 г. 23 центра из 36 выполняли родственные трансплантации почки, всего было проведено 190 трансплантаций (в 2013 г. – 188). Три центра выполнили 20 и более родственных трансплантаций почки: ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (50), НИИ урологии (26), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (24). Средняя частота использования прижизненного донорства почки в 2014 г. составила 18,5% от общего числа трансплантаций почки (в 2013 г. – 20,1%).

На долю Москвы и Московской области приходится 6 центров, выполнивших в 2014 г. 120 родственных трансплантаций почки, или 63,2% от общего числа родственных пересадок почки в России (в 2013 г. – 122 и 64,9%). Средняя частота использования прижизненного донорства почки в Москве и Московской области – 23,4% от общего числа трансплантаций почки в регионе.

Трансплантации почки детям (несовершеннолетним) в 2014 г. выполнялись в 8 центрах, всего было проведено 73 трансплантации почки (2013 г. – 57), из них 68 (93,1%) – в Москве: в РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (28), в РДКБ (28) и в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (12), рис. 5.

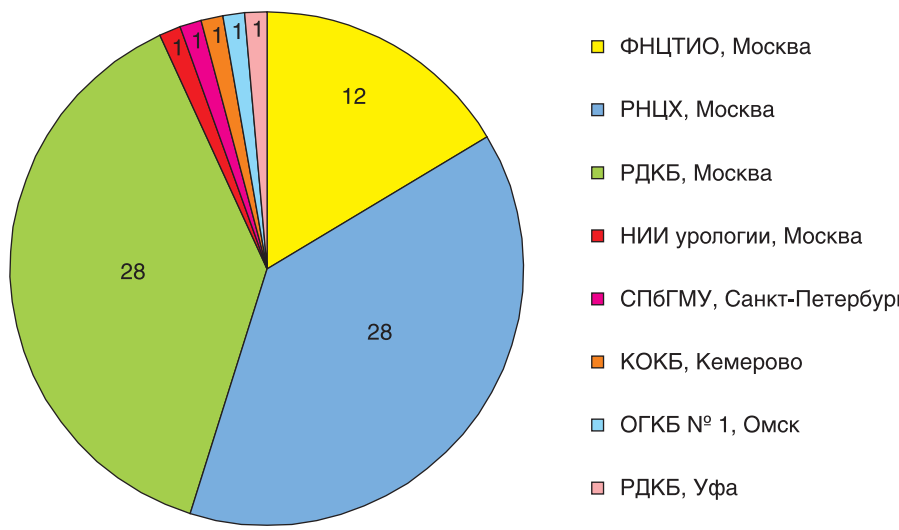


Рис. 5. **Трансплантация почки детям (несовершеннолетним) в РФ в 2014 г.**

Результаты 2014 г. свидетельствуют о том, что в РФ объемы медицинской помощи по трансплантации почки после некоторого спада и стагнации в 2011–2013 гг. (–9,8%) восстанавливаются, сохраняя потенциал для дальнейшего роста.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЭКСТРАРЕНАЛЬНЫХ ОРГАНОВ

В 2014 г. было выполнено всего 162 трансплантации сердца (1,1 на 1 млн населения), из них 3 пересадки детям (несовершеннолетним), что соответствует уровню 2013 г. (164) и на 30 (+22,7%) больше, чем в 2012 г. (рис. 6).

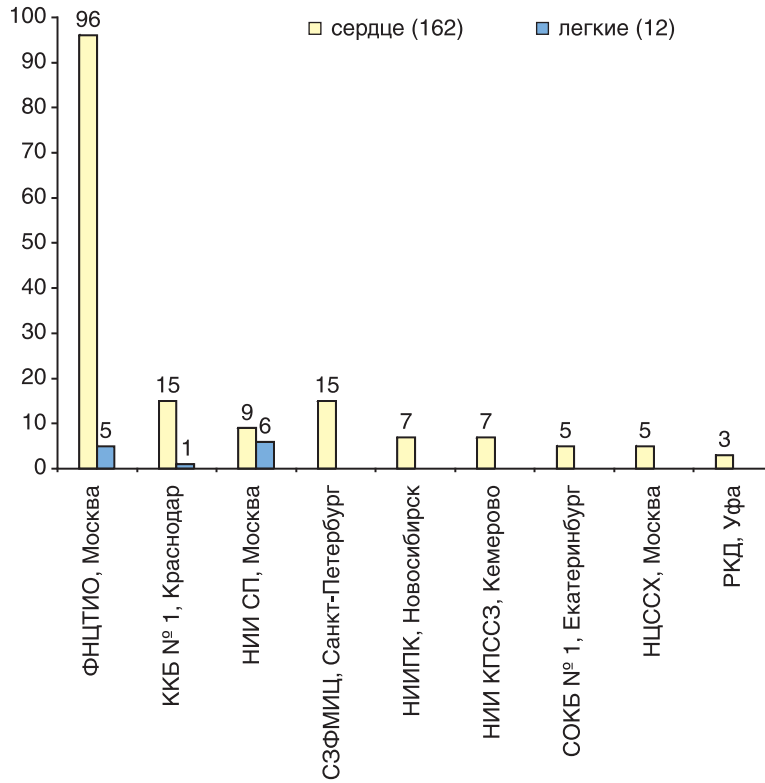


Рис. 6. **Трансплантация торакальных органов (сердца, легких) в 2014 г.**

Трансплантации сердца выполнялись в 9 центрах.

На долю ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (Москва) приходится 59,3% (96) от общего числа трансплантаций сердца в РФ. Успешная программа трансплантации сердца в этом центре определила общий положительный тренд увеличения числа пересадок сердца в стране в 2009–2014 гг. Вместе с тем донорский ресурс Московского региона не бесконечен. Поэтому сохранение тенденции на увеличение числа трансплантаций сердца в стране в будущие годы зависит в большей степени от дальнейшего развития региональных программ: в Санкт-Петербурге (СЗФМИЦ); в Крас-

нодаре (ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского); в Новосибирске (НИИПК им. ак. Е.Н. Мешалкина); в Кемерово (НИИ КПССЗ); в Екатеринбурге (СОКБ № 1); в Уфе (РКД) и др.

В 2014 г. всего было выполнено 302 трансплантации печени (2,1 на 1 млн населения), что на 30 трансплантаций (+11,0%) больше, чем в 2013 г., и на 59 (24,3%) больше, чем в 2012 г.

Трансплантации печени выполнялись в 14 центрах. В 2014 г. была открыта новая программа трансплантации печени: ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница» – 3 трансплантации печени.

Доля центров трансплантации Москвы (4) в трансплантации печени в 2014 г. составила 66,9% (202 пересадки); в 2013 г. – 68,7% (187 пересадок).

В 2014 г. 4 центра трансплантации выполнили 20 и более пересадок печени каждый: ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (103), ФМБЦ им. А.И. Бурназяна (47), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (45), ГНОКБ (26). На эти центры приходится 221 пересадка (73,2% от общего числа трансплантаций печени в РФ), рис. 7.

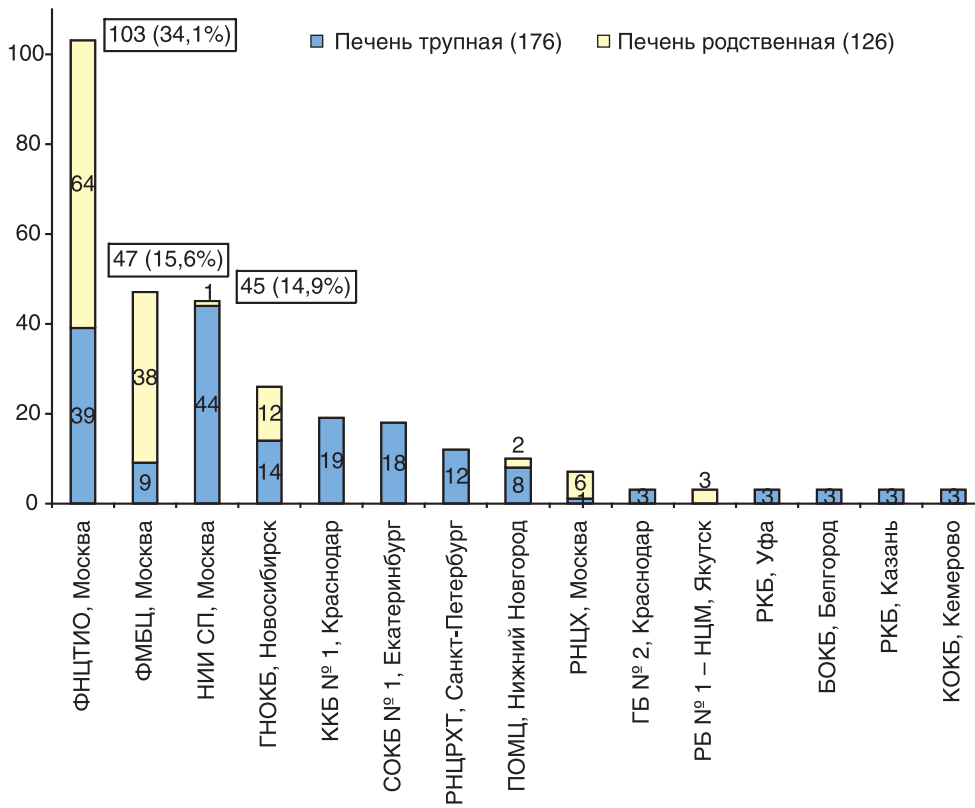


Рис. 7. **Трансплантация печени в 2014 г.**

Родственные трансплантации печени осуществлялись в 10 центрах, число трансплантаций от живых родственных доноров составило 126 (41,7%). В 2013 г. было 8 центров, которые выполнили 119 родственных пересадок печени (43,7%).

В 2014 г. всего было выполнено 76 трансплантаций печени детям (в основном раннего возраста); в 2013 г. – 69. Трансплантации печени детям выполнялись в 3 центрах: в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (68), в РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (5) и в ГНОКБ (3).

Трансплантации поджелудочной железы осуществлялись в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова (6), НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (9), РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского (3) и в ККБ № 1 им. проф. С.В. Очаповского (1), всего было выполнено 19 трансплантаций (в 2013 г. – 16), из них 18 – одновременно с трансплантацией почки.

Число экстраренальных трансплантаций в 2014 г. составило 496, или 32,6% от общего числа трансплантаций (1522).

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

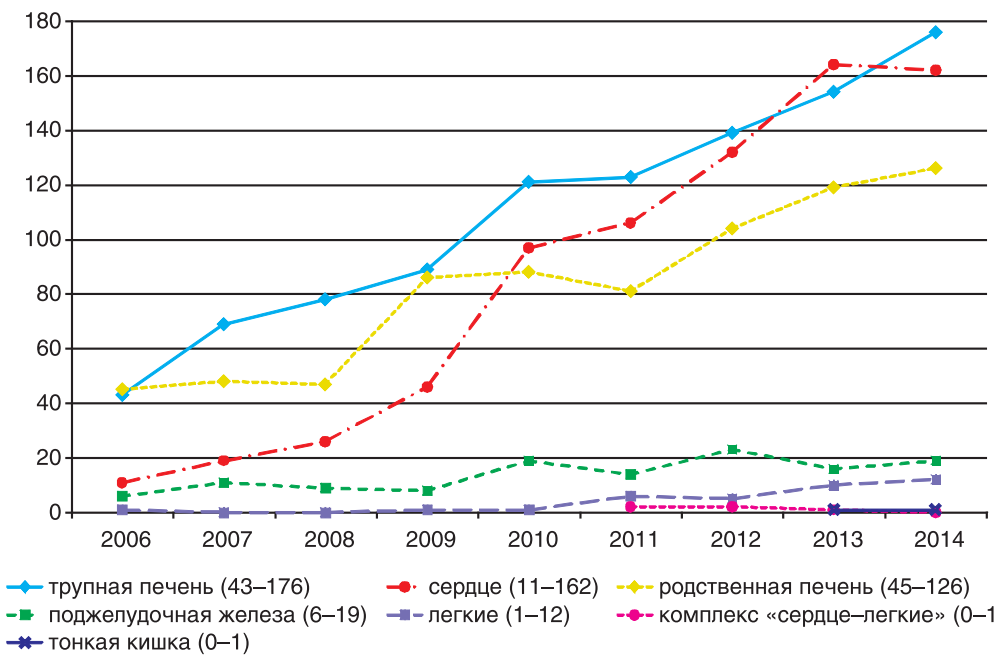


Рис. 8. **Трансплантация экстраренальных органов в 2006–2014 гг.**

Основным источником роста в 2014 г. выступили не новые программы трансплантаций в субъектах РФ, а повышение трансплантационной активности ведущими центрами страны, такими как ФНЦТИО им. ак.

Таблица 8

Трансплантация органов в России в период 2006–2014 гг.

Орган	2006	2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2006–2014
	Абс. число	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Абс. число	Изменение за год	Изменение за период наблюдения (абс.)
Почка всего,	556	666	+110	782	+116	830	+48	1037	+207	975	–62	941	–34	935	–6	1026	+91	+470
в том числе трупная	417	527	+110	637	+110	666	+29	867	+201	796	–71	746	–50	747	+1	836	+89	+419
от живого родственного донора	139	139	0	145	+6	156	+11	170	+14	179	+9	195	+16	188	–7	190	+2	+51
Печень всего,	88	117	+29	125	+8	175	+50	209	+34	204	–5	243	+39	272	+29	302	+30	+214
в том числе трупная	43	69	+26	78	+9	89	+11	121	+32	123	+2	139	+16	154	+15	176	+22	+133
от живого родственного донора	45	48	+3	47	–1	86	+39	88	+2	81	–7	104	+23	119	+15	126	+7	+81
Сердце	11	19	+8	26	+7	46	+20	97	+51	106	+9	132	+26	164	+32	162	–2	+151
Поджелудочная железа	6	11	+5	9	–2	8	–1	19	+11	14	–5	23	+9	14	–9	19	+5	+13
Легкие	1	0	–1	0	0	1	+1	1	0	6	+5	5	–1	10	+5	12	+2	+11
Комплекс «сердце–легкие»										2	+2	2	0	1	–1	0	–1	
Тонкая кишка														1	+1	1	0	
Всего	662	813	+151	942	+129	1060	+118	1363	+303	1307	–56	1345	+38	1400	+55	1522	+122	+860

В.И. Шумакова (+33 пересадки) и НИИСП им. Н.В. Склифосовского (+41 пересадка) в Москве, СПбГМУ им. И.П. Павлова (+19 пересадок) в Санкт-Петербурге, КОКБ (+12) в Кемерово, что, в свою очередь, стало возможным благодаря повышению эффективности донорских программ в этих регионах и межрегиональной координации.

Вклад центров трансплантации Москвы и Московской области в трансплантацию экстраренальных органов остается определяющим и в 2014 г. составил 342 пересадки (68,9%); в 2013 г. – 333 (71,6%).

В табл. 8 представлены данные о динамике числа трансплантаций органов в РФ за 2006–2014 гг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В 2014 г., вопреки сложной социально-экономической ситуации в стране и в здравоохранении, трансплантологическая помощь не только не сдала своих позиций, но показала высокие результаты, обновив исторические максимумы по общему числу трансплантаций органов и по числу трансплантаций печени, также прервался спад в посмертном донорстве и стагнация в трансплантации почки.

Это свидетельствует о повышении стабильности региональных программ донорства и трансплантации органов, при этом потенциал для дальнейшего развития, даже в существующих далеко не оптимальных условиях еще не исчерпан.

Вместе с тем в новых социально-экономических условиях стабильность становится главной целью для трансплантологической помощи на ближайшие годы. Не снизить объемы трансплантаций органов и качество медицинской помощи населению, сохранить центры трансплантации, ресурсную базу и специалистов – главные задачи как государственного здравоохранения, так и профессионального медицинского сообщества.

Что касается перспектив увеличения донорской и трансплантационной активности в существующих условиях, такой потенциал, на наш взгляд, имеется.

Исходя из среднего показателя органного донорства в 21 функционирующем регионе с общим населением 77,7 млн человек, равного 6,0 эффективных доноров на 1 млн, можно предположить реальное увеличение числа донорских изъятий:

– в Ростовской области – до 25 в год;
– в Оренбургской области – до 12 в год.

Освоение практик мультиорганных изъятий в Самарской, Волгоградской и Омской областях на фоне уже существующих показателей посмертного донорства 6,3; 6,9; 8,0 на млн населения соответственно может

дать дополнительно от 10 до 20 различных экстраренальных органов для каждого региона при освоении методик экстраренальных трансплантаций или для использования на соседних территориях.

Сохраняется потенциал для увеличения донорской и трансплантационной активности в Санкт-Петербурге, в Московской области, в Барнауле, Челябинске, Саратове, в рамках ведомственной программы ФМБА России. Не в полной мере реализуется донорский потенциал Новосибирска и Казани. При должном внимании со стороны органов управления здравоохранением этих регионов там также можно прогнозировать увеличение объемов трансплантации почки, печени, сердца.

Сохраняется потенциал для увеличения объемов трансплантаций сердца в новых центрах в Кемерово (НИИКПССЗ) и в Уфе (РКД), а также в Екатеринбурге (СОКБ № 1).

По опыту ведущих программ трансплантации сердца в РФ (Москва, Санкт-Петербург, Краснодар) в расчете на одного эффективного донора можно получать 0,4–0,5 сердца. В 2014 г. в Кемеровской области был реализован 31 эффективный донор, потенциальный ресурс донорских сердец составил 12–15 (сделано 7 трансплантаций сердца). Аналогично в Уфе – 19 эффективных доноров, потенциал – 7–9 трансплантаций сердца (сделано 3); в Екатеринбурге – 23 эффективных донора, потенциал – 9–11 трансплантаций сердца (сделано 5).

Ведущее значение как для стабильности, так и для увеличения объемов трансплантологической помощи в эти годы будет иметь государственное задание на высокотехнологичную медицинскую помощь за счет бюджетных средств (федерального и субъектов РФ). Кроме того, с 2015 г. на основании соответствующих изменений в федеральное законодательство запланировано выделение из федерального бюджета целевых средств (субсидий) субъектам РФ на организацию посмертного донорства. Решение долгожданное и необходимое для стабильного развития трансплантологической помощи в стране.

Таким образом, в стране по-прежнему сохраняются предпосылки и потенциал для дальнейшего развития трансплантологической помощи, увеличения донорской и трансплантационной активности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С.* Тенденции развития органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2008 гг. I сообщение (по данным регистра Российского трансплантологического общества) // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2009. – Т. XI, № 3. – С. 8–16.
2. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2009 году. II сообщение регистра Рос-

сийского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2010. – Т. XII, № 3. – С. 6–15.

3. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С.* Развитие органного донорства и трансплантации в Российской Федерации в 2006–2010 гг. III сообщение регистра Российского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2011. – Т. XIII, № 2. – С. 6–20.
4. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М., Ибрагимова О.С.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2011 г. IV сообщение регистра Российского трансплантологического общества // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2012. – Т. XIV, № 3. – С. 6–18.
5. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.* Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2012 г. (V сообщение регистра Российского трансплантологического общества) // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2013. – Т. XV, № 2. – С. 8–22.
6. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.* Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2013 году (VI сообщение регистра Российского трансплантологического общества) // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2014. – Т. XVI, № 2. – С. 5–23.
7. *Готье С.В., Хомяков С.М.* Оценка потребности населения в трансплантации органов, донорского ресурса и планирование эффективной сети центров трансплантации // *Вестник трансплантологии и искусственных органов.* – 2013. – Т. XV, № 3. – С. 11–24.

IV. РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ИННОВАЦИИ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ, ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ, РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ (краткий аналитический отчет о результатах выполненных работ в рамках государственного задания Минздрава России на осуществление научных исследований и разработок за 2012–2014 гг.)

Шевченко О.П., Стаханова Е.А.

В головном учреждении – Федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2012–2014 гг. по государственному заданию выполнялись 12 (5 – фундаментальных, 7 – прикладных) научно-исследовательских работ; выполнение одной из указанных НИР («Разработка и усовершенствование технологий трансплантации органов и тканей в условиях тканевой несовместимости и от АВ0-несовместимых доноров») начато в 2013 г. в рамках дополнительного финансирования научных исследований и разработок.

Приоритетные направления исследований и разработок:

- разработка биологических и клинических аспектов трансплантации жизненно важных органов;
- разработка и создание искусственных органов: разработка, экспериментальная апробация и внедрение в клиническую практику систем вспомогательного кровообращения на базе осевых насосов («искусственного левого желудочка», «искусственного сердца»);
- регенеративная медицина и клеточные технологии, создание биоискусственных органов.

Научные платформы: инвазивные технологии, регенеративная медицина (утвержденные приказом Минздрава России от 30.04.2013 г. № 281). Кроме того, как и планировалось, выполнялись работы, соответствующие платформе «Кардиология и ангиология».

По результатам работ опубликовано 203 научные статьи в журналах с импакт-фактором >0,3, из них 43 – в зарубежных научных журналах с высокими импакт-факторами (до 38,278). Достигнутые результаты существенно превышают плановые показатели (в соответствии с госзаданием должна была быть опубликована 31 статья).

Создано 24 объекта интеллектуальной собственности (заявки на изобретения, полезные модели, программы для ЭВМ, базы данных, ноу-хау), на 18 из которых уже получены патенты или положительные решения (в том числе «Способ билиарной реконструкции при ортотопической трансплантации левого латерального сектора печени детям при наличии общего устья желчных протоков II и III сегментов печени по Готье»), остальные (поданные в 2014 г.) находятся на рассмотрении в ФИПС.

Создано 12 экспериментальных образцов матриксов, биоинженерных конструкций для регенеративной медицины и 9 экспериментальных образцов имплантируемых насосов и комплектующих компонентов для систем вспомогательного кровообращения.

Проведена первая имплантация разработанной в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова отечественной системы вспомогательного кровообращения на основе осевого насоса пациенту с терминальной сердечной недостаточностью с последующей трансплантацией сердца. Заключен лицензионный договор; разработанная система вспомогательного кровообращения на основе осевого насоса используется в ряде клиник России (Москва, Новосибирск, Омск).

Работа под руководством С.В. Готье «Разработка и внедрение в практику здравоохранения инновационных научно-технологических и организационных решений по повышению эффективности трансплантации сердца» представлена на соискание Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники за 2014 г. Работа «Биохимические, иммунологические, патофизиологические и клинические аспекты трансплантации печени детям» удостоена гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ.

I. Разработка биологических и клинических аспектов трансплантации жизненно важных органов

Выполнение НИР было направлено на решение ключевых вопросов трансплантологии: расшифровку молекулярных механизмов взаимоотношений трансплантата и организма реципиента; разработку и усовершенствование методов прогнозирования, диагностики, лечения осложнений у реципиентов солидных органов. Основная научная проблема – разработка инновационных научно-технологических и организационных реше-

ний по повышению эффективности трансплантации жизненно важных органов.

Решению указанных выше задач были посвящены следующие фундаментальные темы НИР:

- Биохимические, биофизические, иммунные механизмы поражения и обратного ремоделирования миокарда при застойной сердечной недостаточности и после трансплантации сердца.
- Молекулярные механизмы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата.
- Изучение биологических аспектов взаимодействия трансплантата и реципиента и разработка путей пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента.
- Разработка и усовершенствование технологий трансплантации органов и тканей в условиях тканевой несовместимости и от АВ0-несовместимых доноров.

Наиболее значимые результаты

- По результатам биомедицинских исследований найдены высокоспецифичные и достоверные молекулярные биомаркеры, позволяющие оценивать состояние трансплантата, прогнозировать течение послеоперационного периода; разработаны способы прогнозирования и диагностики для персонифицированного подхода к лечению пациентов с трансплантированными органами.
- На основании результатов изучения ремоделирования периферических артерий у реципиентов сердца разработан принципиально новый способ неинвазивной скрининговой диагностики отторжения трансплантированного сердца.
- В ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова накоплен уникальный для мировой практики опыт успешных трансплантаций печени детям, в том числе от живого родственного донора, не совместимого по группе крови, что позволило расширить научно-практические подходы к излечиванию детей, страдающих неизлечимыми заболеваниями печени и желчевыводящих путей. На основании биомедицинских и клинических исследований разработана и доказана концепция безопасности и эффективности трансплантации печени детям от донора, не совместимого по группе крови; выработаны критерии, созданы методы подготовки реципиентов и доноров к АВ0-несовместимой трансплантации печени и почки.

Внедрение результатов исследований позволило увеличить число трансплантаций сердца; снизить летальность в листе ожидания, улучшить клинические результаты (выживаемость) в посттрансплантационном периоде. По числу трансплантаций сердца ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова вышел на первое место в мире; клинические результаты соответствуют

мировому уровню; первое место в мире по числу трансплантаций печени у детей раннего возраста. В 2014 г. начата программа трансплантации легких.

Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов НИР на федеральном и региональном уровне позволит увеличить количество родственных трансплантаций почки и печени на 15% в год за счет более эффективного использования возможностей прижизненного донорства. При этом использование персонифицированных протоколов подготовки и послеоперационного ведения реципиентов позволяет достигать удовлетворительных результатов без применения усиленных режимов иммуносупрессивной терапии.

II. Исследования и разработки в области создания искусственных органов: систем вспомогательного кровообращения («искусственного левого желудочка»)

Выполнялись в рамках трех прикладных тем НИР:

- Разработка методики экспериментальной и клинической апробации имплантируемых осевых насосов.
- Разработка методики бивентрикулярного обхода сердца с помощью осевых насосов в эксперименте.
- Разработка медико-технических требований к осевому насосу для двухэтапной трансплантации сердца у детей.

Наиболее значимые результаты

- Созданы экспериментальные образцы имплантируемого осевого насоса для вспомогательного кровообращения, предназначенного для педиатрической практики (у детей до 12 лет).
- Разработан отечественный аппарат «искусственный левый желудочек сердца» на уровне лучших мировых образцов, который прошел успешные испытания в эксперименте, впервые применен в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова при двухэтапной трансплантации сердца пациенту с тяжелой сердечной недостаточностью.

Внедрение в практику осуществлено на федеральном уровне: аппарат вспомогательного кровообращения на основе осевого насоса в настоящее время используется в клиниках Москвы, Новосибирска и Омска.

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

Выполнялись в рамках 4 прикладных и одной фундаментальной тем государственного задания:

- Разработка технологий создания биоактивных и биодеградируемых трехмерных (3D) матриксов с регулируемыми физико-химическими и биологическими свойствами для регенеративной медицины мягких и костных тканей.
- Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций поджелудочной железы из культур островковых клеток поджелудочной железы и биодеградируемых носителей с целью стимуляции регенерации β-клеток у больных сахарным диабетом.
- Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций печени из ассоциатов клеток печени и биодеградируемых носителей.
- Разработка и экспериментально-клиническое исследование тканеинженерной конструкции хряща.
- Системный микро- и наноструктурный анализ полимерных материалов для заместительной и регенеративной медицины (фундаментальная тема).

Наиболее значимые результаты

- Разработаны и созданы экспериментальные образцы биоискусственных систем (печени, хряща) для лечения тяжелых заболеваний человека. Это биоинженерные конструкции, разработанные на основе нанотехнологий и тканевой инженерии с использованием природных и новейших биоискусственных материалов. Они предназначены для имплантации в поврежденные органы и ткани, длительного лечебного воздействия на них с последующим бесследным рассасыванием.
- Сочетание биоинженерных конструкций с клеточными технологиями лежит в основе «биоискусственной печени»: уникальная разработка представляет собой гибрид искусственного матрикса-носителя и живых клеток и предназначается для лечения печеночной недостаточности. В настоящее время разработанная высокотехнологичная клеточно-инженерная конструкция «биоискусственная печень», рассчитанная на оказание длительного лечебного воздействия на организм, исследуется в эксперименте на животных. Биохимические, морфологические исследования показали эффективность и жизнеспособность созданной биоискусственной печени в длительных экспериментах.

- Завершены экспериментальные исследования созданной клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани. Полученные результаты позволяют перейти к клиническим исследованиям инновационной медицинской технологии для коррекции и лечения гонартроза.
- Разработаны новые технологии и созданы образцы биоактивных биополимерных матриксов с регулируемыми физико-химическими и биологическими свойствами для заместительной и регенеративной медицины, которые могут быть использованы для формирования различных тканеинженерных конструкций, применяемых в заместительной и регенеративной медицине (хрящевая ткань, биоискусственная печень); могут найти применение в качестве раневых покрытий и «подложки» для создания биоискусственной кожи.
- Создана новая технология исследований трехмерной наноструктуры полимерных и биологических материалов. В основе технологии лежит объединение методов сканирующей зондовой микроскопии и криоультрамикротомии при низких температурах (до –190 °С). Для развития инновационного проекта крионанотомографии при участии ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова создана компания «СНОТРА» (резидент Фонда «Сколково»).

Выше приведены лишь некоторые, наиболее значимые результаты, полученные в ходе выполнения госзадания. Более полный анализ выполненных работ и полученных результатов представлен в следующих разделах, составленных по материалам отчетов по каждой теме НИР.

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ НИР ПО НАПРАВЛЕНИЮ «РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЖИЗНЕННО ВАЖНЫХ ОРГАНОВ»

МЕХАНИЗМЫ ПОРАЖЕНИЯ И ОБРАТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА ПРИ ЗАСТОЙНОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Шевченко А.О., Шумаков Д.В., Саховский С.А., Миронков А.Б.

Сердечно-сосудистые заболевания, такие как атеросклероз, дилатационная кардиомиопатия, приводят к развитию сердечной недостаточности, инвалидизации и смерти большого числа наших сограждан, в том числе лиц трудоспособного возраста и молодых людей. Изучение молекулярных механизмов поражения миокарда собственного сердца и сердечного трансплантата позволит понять механизмы его обратного ремоделирования, разработать оптимальный протокол лечения больных застойной сердечной недостаточностью и реципиентов сердца, повысить качество жизни больных в терминальной стадии застойной сердечной недостаточности, увеличить число излеченных социально адаптированных больных.

Наиболее радикальным методом лечения пациентов с данной патологией является трансплантация сердца. В этом направлении достигнуты значительные результаты: существенно выросло количество операций пересадки сердца, растет число центров трансплантации. Однако проблема донорства, дефицита донорских органов, вероятно, не может быть решена полностью в обозримом будущем, поэтому не теряет актуальности вопрос развития альтернативных методов лечения застойной сердечной недостаточности.

Потенциально реваскуляризация миокарда у пациентов с его выраженной дисфункцией ишемического генеза может улучшать прогноз заболевания по нескольким причинам. Функция поврежденного, но жизнеспособного миокарда (гибернирующего или оглушенного), может восстанавливаться в ответ на восстановление кровоснабжения – реваскуляризацию. Гибернирующий миокард – это не функционирующие по причине недостаточного кровоснабжения кардиомиоциты, способные восстанавливать свою сократительную способность при улучшении перфузии. При этом в ответ на улучшение кровоснабжения гибернирующие клетки восстанавливают свою функцию только через определенное время. Так, примерно 2/3 от общего числа миоцитов, находящихся в состо-

нии гибернации, функционально восстанавливаются спустя 14 мес. и более после реваскуляризации. Имеются данные, что в гибернирующих кардиомиоцитах могут запускаться процессы апоптоза, поэтому ранняя реваскуляризация потенциально может предупредить необратимую дисфункцию. Оглушенный миокард определяется как дисфункциональный по причине транзиторной (преходящей) ишемии и в отличие от гибернирующего способен восстанавливать свою функцию в ответ на реваскуляризацию значительно быстрее. На практике различия между гибернацией и оглушением стерты, и по-видимому, оба этих механизма дисфункции способны развиваться в одном сердце, определяя его систолическую дисфункцию, ремоделирование и развитие сердечной недостаточности. Важная роль придается в настоящее время оценке роли функциональных показателей, отражающих состояние миокарда, в ранней диагностике васкулопатии сердечного трансплантата.

Оценка выраженности ремоделирования миокарда в результате его реваскуляризации при ишемической кардиомиопатии, а также оценка эффективности использования кардиоресинхронизирующей терапии у пациентов с застойной сердечной недостаточностью ишемического и неишемического генеза направлены на улучшение результатов оказания медицинской помощи большому числу пациентов, как имеющих признаки застойной недостаточности, так и тем, кому операция трансплантации сердца успешно выполнена, но в позднем посттрансплантационном периоде осложнилась васкулопатией трансплантата.

На первом этапе настоящего исследования изучали молекулярные механизмы поражения миокарда при ишемической болезни сердца и дилатационной кардиомиопатии для обоснования возможности его обратного ремоделирования. По результатам анализа специфических биомаркеров в различные сроки после трансплантации сердца определено участие процессов воспаления, апоптоза и иннативного иммунитета в патогенезе застойной сердечной недостаточности и обосновано использование указанных биомаркеров как индикаторов тяжести сердечной недостаточности и оценки эффективности лечения. По результатам иммуногистохимических исследований охарактеризованы изменения макромолекулярной структуры кардиомиоцитов, типичные для дилатационной кардиомиопатии. Установлено участие вирусной инфекции в негативном ремоделировании миокарда у реципиентов трансплантированного сердца. Доказано участие поражения микроциркуляторного русла в процессах негативного ремоделирования миокарда при сердечной недостаточности.

На следующем этапе были исследованы механизмы ремоделирования миокарда левого желудочка сердца в результате реваскуляризации при ишемической кардиомиопатии и васкулопатии сердечного трансплантата; оценены факторы, определяющие эффективность кардиоресинхронизирующей терапии при застойной сердечной недостаточности. Выявле-

ны прогностические факторы, позволяющие предсказать эффективность метода кардиоресинхронизирующей терапии в долгосрочном периоде. Фактором, продемонстрировавшим свою ценность для анализа динамики результатов кардиоресинхронизирующей терапии, стало систолическое утолщение миокарда ЛЖ, рассчитанное по результатам перфузионной томосцинтиграфии миокарда, синхронизированной с ЭКГ. Показано, что степень повреждения миокарда при терминальной стадии застойной сердечной недостаточности ишемического генеза варьирует в широких пределах и не связана напрямую с состоянием артерии, ответственной за кровоснабжение определенного сегмента сердечной стенки. Эффект коронарной ангиопластики ассоциируется с улучшением показателей гемодинамики в правых и левых отделах сердца, а также с повышением уровня функционального состояния миокарда.

Клинический результат коронарной ангиопластики у больных ишемической кардиомиопатией с явлениями сердечной недостаточности III–IV ФК не зависит от полноты восстановления коронарного русла. Реваскуляризация определяет ремоделирование прежде всего функционирующего миокарда, способного ответить на улучшения кровоснабжения сердечной мышцы.

Целью третьего этапа исследования было оценить динамику показателей, отражающих функциональное состояние сердечного трансплантата в результате реваскуляризации миокарда у пациентов с болезнью коронарных артерий пересаженного сердца методом коронарной ангиопластики; определить влияние атероматоза коронарного русла донорского сердца на непосредственные и отдаленные результаты операции трансплантации; оценить зависимость функционального ремоделирования миокарда в результате реваскуляризации от степени исходного нарушения перфузии и кинетики сердечной стенки при застойной сердечной недостаточности ишемического генеза.

Установлено, что динамика показателей функционального состояния миокарда в процессе развития болезни коронарных артерий пересаженного сердца и восстановление функциональных показателей сердца после реваскуляризация миокарда при васкулопатии первого типа свидетельствуют о ведущей роли ишемии в патогенезе страдания трансплантата. Отдаленные результаты стентирования коронарных артерий трансплантата зависят от возраста реципиента.

Выявление трансмиссивного атеросклероза в ранние сроки после трансплантации позволяет выполнить реконструкцию коронарного русла с помощью коронарной ангиопластики и улучшить отдаленные результаты трансплантации сердца.

Степень нарушения перфузии и кинетики миокарда ЛЖ при застойной сердечной недостаточности ишемического генеза определяет потенциальную способность миокарда к функциональному ремоделированию

в результате реваскуляризации. Хроническое снижение перфузии более 50%, сопровождающееся нарушением кинетики ЛЖ более чем на 40%, является предиктором, ограничивающим потенциал функционального ремоделирования миокарда.

Обнаруженная связь уровней биомаркеров, отражающих выраженность процессов воспаления, активации макрофагов, Fas-опосредованного апоптоза с функциональным классом сердечной недостаточности, показателями функции миокарда левого желудочка и уровнями биохимических маркеров, указывает на участие воспаления, апоптоза и нативного иммунитета в патогенезе застойной сердечной недостаточности и обосновывает использование указанных биомаркеров как индикаторов тяжести сердечной недостаточности и оценки эффективности лечения.

Выявлены молекулярные основы и патогенетически обоснованы глубинные связи повреждения коронарных артерий и миокарда при развитии васкулопатии трансплантата и его позитивного ремоделирования при успешном лечении путем восстановления коронарного русла методом ангиопластики. Связь величины коронарного резерва с нарушениями функции миокарда пересаженного сердца свидетельствует о влиянии поражения микроциркуляторного русла на процессы негативного ремоделирования миокарда при хроническом гуморальном отторжении пересаженного сердца.

Результаты исследования позволяют считать, что специфические нарушения макромолекулярной структуры миокарда у больных дилатационной кардиомиопатией свидетельствуют о генетической патологии, повлекшей фатальные нарушения его структуры и функции. Решена задача выбора адекватного метода оценки функционального состояния миокарда. При лечении застойной сердечной недостаточности как ишемической, так и идиопатической этиологии важную информацию дает однофотонная эмиссионная компьютерная томосцинтиграфия миокарда, синхронизированная с ЭКГ (ОЭКТ).

Показатели перфузии и утолщения миокарда, полученные с помощью ОЭКТ, отражают его жизнеспособность и способность к обратному ремоделированию. Предиктором неэффективности кардиоресинхронизирующей терапии является соотношение накопления радиофармпрепарата в боковой стенке ЛЖ по отношению к боковой стенке ПЖ менее 1,5. Данный показатель может служить дополнительным критерием отбора пациентов для постановки в лист ожидания на трансплантацию сердца. Выявлены прогностические факторы, позволяющие предсказать эффективность метода кардиоресинхронизирующей терапии в долгосрочном периоде. Фактором, продемонстрировавшим свою ценность для анализа динамики результатов кардиоресинхронизирующей терапии, стало систолическое утолщение миокарда ЛЖ, рассчитанное по результатам ОЭКТ.

Многоуровневое, мозаичное поражение сердечной мышцы при застойной сердечной недостаточности ишемического генеза предъявляет эксклюзивные требования к прогнозированию эффективности реваскуляризации миокарда. Патофизиологическим обоснованием очередности в листе ожидания трансплантации сердца являются результаты оценки функционального состояния миокарда и потенциала его обратного ремоделирования после успешной коронарной ангиопластики по степени выраженности исходного нарушения перфузии и кинетики сердечной стенки.

Изучение динамики функционального состояния трансплантированного сердца при развитии васкулопатии и обратное функциональное ремоделирование его после реваскуляризации убедительно доказывают патогенетическую роль ишемии миокарда при болезни коронарных артерий пересаженного сердца. Молодой возраст реципиентов (<30 лет) является фактором, влияющим на отдаленные результаты стентирования коронарных артерий трансплантата.

Выполнение коронарной ангиопластики в ранние сроки после трансплантации позволяет нивелировать влияние трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий трансплантата как фактора, определяющего прогноз операции трансплантации сердца.

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

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ БОЛЕЗНИ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ СЕРДЦА И СЕРДЕЧНОГО ТРАНСПЛАНТАТА

Шевченко А.О., Миронков Б.Л., Попцов В.Н., Саитгареев Р.Ш., Тюняева И.Ю., Насырова А.А., Захаревич В.М., Халилулин Т.А., Шевченко О.П.

Трансплантация сердца (ТС) – общепризнанный радикальный метод лечения пациентов с застойной сердечной недостаточностью, позволяющий добиться высокого качества жизни пациентов после операции. Продолжительность жизни реципиентов ограничена посттрансплантационными осложнениями, наиболее серьезным из которых является васкулопатия трансплантата, развивающаяся вследствие сочетанного влияния множества иммунных и неиммунных факторов.

Болезнь коронарных артерий трансплантированного сердца (БКАПС) остается главной причиной смерти или ретрансплантации у реципиентов, проживших 5 и более лет после пересадки. Это заболевание характеризуется диффузной пролиферативной васкулопатией, ограниченной артериями трансплантированного сердца, и обуславливает развитие инфаркта миокарда, сердечной недостаточности, нарушений ритма и внезапной смерти у реципиентов. На развитие васкулопатии трансплантата влияют факторы, действующие не только в отдаленном периоде, но и в ранние сроки после трансплантации, а также на дотрансплантационном этапе.

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

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

В ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова изучаются патогенетические механизмы, возможности прогнозирования развития васкулопатии транс-

плантата на основании исследования в плазме крови реципиентов сердца специфических биомаркеров, отражающих активность процессов воспаления, тромбообразования, костимуляции Т-клетки, неоангиогенеза; разрабатываются подходы к объективной оценке эффективности лечения.

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

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

На этапе выполнения госзадания в 2014 г. производились выявление факторов, значимых в патогенезе БКАПС; оценка взаимодействия различных факторов риска при развитии патологии коронарных артерий трансплантата; разработка методов прогнозирования и патогенетически обоснованной терапии, подходов, направленных на улучшение отдаленных результатов трансплантации сердца.

Задачи исследования

1. Провести анализ клинических результатов трансплантаций сердца, выполняемых в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова.
2. Изучить показатели жесткости сосудистой стенки общей сонной артерии (ОСА) у пациентов до и после ТС; оценить изменения этого показателя у больных с отторжением сердечного трансплантата и болезнью коронарных артерий пересаженного сердца.

3. Провести анализ уровней лабораторных биомаркеров, участвующих в формировании взаимоотношений трансплантата и организма реципиента, и их связи с отдаленными результатами трансплантации.
4. Оценить вклад трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий трансплантата в непосредственный исход трансплантаций и определить перспективность использования трансплантатов с предсуществующим коронарным атеросклерозом.
5. Оценить качество жизни пациентов до, в ранние и отдаленные сроки после трансплантации сердца.

В результате третьего этапа исследования, выполненного в 2014 г., установлено следующее.

В последние годы существенно увеличено число выполненных в ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова трансплантаций сердца, клинические результаты которых соответствуют мировому уровню. Основные направления исследований по разработке и внедрению методов ранней диагностики нежелательных событий и лечения пациентов с трансплантированным сердцем включают анализ лабораторных биомаркеров, участвующих в формировании взаимоотношений трансплантата и реципиента; ультразвуковую диагностику функционального и структурного ремоделирования периферических артерий.

У пациентов с трансплантированным сердцем значение показателя жесткости сосудистой стенки общей сонной артерии выше, чем у больных до трансплантации сердца и больных стабильной стенокардией напряжения без признаков сердечной недостаточности. У пациентов с иммуногистохимическими признаками отторжения и коронароангиографическими признаками васкулопатии трансплантата значение показателя жесткости сосудистой стенки общей сонной артерии достоверно выше, чем у больных без таковых, что может служить основанием для разработки подхода к неинвазивной скрининговой диагностике указанных осложнений.

Концентрация ряда биомаркеров, измеренная у реципиентов сердца в предоперационном периоде, может служить предиктором развития васкулопатии трансплантированного сердца, острого клеточного или антителоопосредованного отторжения. Наличие связи показателя эластичности (жесткости) общей сонной артерии с уровнями биомаркеров активации Т-клеток (sCD30), костимуляции Т-клеток и активации тромбоцитов (sCD40L), имеющих патогенетическое значение в развитии повреждения коронарных артерий при отторжении и васкулопатии трансплантата сердца, является дополнительным аргументом в пользу концепции о возможной связи ремоделирования периферических артерий и повреждения сосудов трансплантата сердца.

Использование трансплантатов от возрастных доноров сопряжено с повышенным риском трансмиссивного атеросклероза коронарных арте-

рий трансплантата у реципиентов. Чрескожное коронарное вмешательство по поводу трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий трансплантата не сопровождается коронарогенной летальностью после трансплантации сердца и позволяет нивелировать отрицательное влияние стенозирующего поражения коронарных артерий трансплантата на непосредственный и отдаленный результат операции. Актуриальная выживаемость пациентов, перенесших чрескожное коронарное вмешательство по поводу трансмиссивного атеросклероза коронарных артерий трансплантата, сопоставима с таковой в общей популяции реципиентов и на сроке до 5,5 года составляет 87,5%.

В течение года после трансплантации сердца больным терминальной сердечной недостаточностью отмечается значительное достоверное улучшение всех показателей, характеризующих качество жизни пациентов. Высокие уровни показателей физической, психической и социальной активности, достигнутые к первому году, сохраняются на протяжении 5 лет, что свидетельствует о высокой эффективности операции ортотопической трансплантации сердца как радикального метода лечения тяжелой сердечной недостаточности.

Резюмируя результаты многолетнего исследования, можно констатировать следующее. Трансплантация сердца является методом выбора лечения пациентов в терминальной стадии застойной сердечной недостаточности. Однако успешный клинический опыт трансплантации сердца заставил столкнуться с новой проблемой – болезнью коронарных артерий пересаженного сердца (БКАПС) – наиболее частой причиной ретрансплантации сердца и смерти пациентов, проживших более года после операции. Васкулопатия трансплантата проявляется диффузной прогрессирующей гиперплазией интимы артериальной стенки и имеет патофизиологическое, патоморфологическое сходство с атеросклерозом, но характеризуется рядом отличий. Понимание патогенеза васкулопатии трансплантата сердца значительно прогрессировало за последние 10 лет, хотя точные патофизиологические механизмы, вовлеченные в развитие повреждения коронарных артерий, до конца не ясны.

В ходе выполнения госзадания в 2012–2014 гг. были получены результаты, позволяющие лучше понять механизмы развития сердечно-сосудистых осложнений у реципиентов сердца, создающие основу для разработки неинвазивных методов их прогнозирования и диагностики, а также возможной профилактики и лечения.

На основании выявленной связи уровней маркеров воспаления, тромбообразования, эндогенной деструкции тканей, неоангиогенеза с отдаленным прогнозом у реципиентов сердца, риском развития и прогрессирования болезни коронарных артерий пересаженного сердца разработана новая концепция патогенеза васкулопатии трансплантата, учитывающая синергизм действия различных факторов.

Маркеры тромбообразования (антитела к кардиолипину, АКЛ, растворимая форма лиганда CD40, sCD40L), регуляции биодоступности инсулиноподобного фактора роста, ИФР (белок беременности плазмы крови), PAPP-A и неоангиогенеза (PlGF) являются патогенетически значимыми факторами повреждения коронарных сосудов трансплантата сердца и индикаторами риска раннего развития васкулопатии и сердечно-сосудистых осложнений после трансплантации.

Измерение концентрации растворимых биомаркеров в плазме крови реципиентов до и после трансплантации сердца, с одной стороны, позволяет оценивать механизмы развития васкулопатии трансплантата и их изменение в процессе лечения или развития осложнений, с другой – является клинически значимым с точки зрения диагностики, прогноза, оценки эффективности лечения васкулопатии трансплантата.

Определение в плазме крови больных застойной сердечной недостаточностью, ожидающих трансплантацию сердца, уровней АКЛ, sCD40L, PAPP-A и PlGF может быть использовано для выявления пациентов с высоким риском раннего развития васкулопатии трансплантата и сердечно-сосудистых осложнений после трансплантации. Измерение в плазме крови реципиентов сердца в ранние сроки после трансплантации уровней указанных биомаркеров целесообразно для прогноза развития васкулопатии трансплантата и сердечно-сосудистых осложнений.

Индивидуальный контроль соответствующих лабораторных маркеров позволит выявить наиболее выраженное звено патогенеза БКАПС у конкретного пациента и тем самым определить мишень для индивидуализированной патогенетически обоснованной терапии с целью снижения риска и замедления прогрессирования васкулопатии трансплантата сердца у конкретного пациента.

На основании результатов проведенных исследований продемонстрирована значимая прогностическая роль анти-HLA антител, выявляемых на этапе дотрансплантационного обследования, в отношении риска развития васкулопатии трансплантированного сердца. Наряду с другими лабораторными биомаркерами риска развития БКАПС выявление предсуществующих анти-HLA является одним из важных компонентов предтрансплантационного обследования реципиентов сердца, позволяющим определить риски развития посттрансплантационных осложнений и предпринять необходимые меры профилактики на ранних сроках посттрансплантационного периода.

Среди комплекса исследованных лабораторных биомаркеров наибольшей прогностической значимостью в отношении развития БКАПС обладает PAPP-A; корреляции между уровнем растворимой формы рецепторов к конечным продуктам гликозилирования (sRAGE) и риском васкулопатии трансплантата выявлено не было.

Содержание гемопоэтических (CD34/CD45+) клеток в крови пациентов снижается после трансплантации сердца; у реципиентов с ишемиче-

ской кардиомиопатией количество клеток после трансплантации связано с уровнем sCD40L, определяемым на этапе дотрансплантационного обследования.

В ходе работы установлено, что у пациентов с трансплантированным сердцем значение показателя жесткости сосудистой стенки общей сонной артерии выше, чем у больных до трансплантации сердца и больных ИБС. Показатель жесткости сосудистой стенки ОСА не зависит от времени после ТС, пола, возраста и исходного диагноза. У пациентов с гистологическими и иммуногистохимическими признаками отторжения и коронароангиографическими признаками васкулопатии трансплантата значение показателя жесткости сосудистой стенки общей сонной артерии достоверно выше, чем у больных без таковых, что может служить основанием для разработки подхода к неинвазивной скрининговой диагностике указанных осложнений. Показатель жесткости сосудистой стенки ОСА в перспективе может быть использован в качестве предиктора нежелательных событий у больных в отдаленные сроки после ТС.

Продемонстрирована безопасность приема розувастатина у реципиентов пересаженного сердца в условиях проводимой иммуносупрессивной терапии. Показано выраженное нелипидное действие розувастатина у реципиентов пересаженного сердца, позволяющее добиться снижения уровней биомаркеров риска развития БКАПС (PAPP-A, sCD40L). Эффективное медикаментозное лечение статинами позволяет минимизировать риск осложнений посттрансплантационного периода с целью достижения наилучших отдаленных результатов трансплантации сердца.

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

Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов НИР на федеральном и региональном уровне обеспечит повышение качества обследования и лечения больных в терминальной стадии застойной сердечной недостаточности и реципиентов сердца, позволит увеличить количество трансплантаций сердца, снизить частоту развития осложнений после трансплантации сердца, увеличить продолжительность и качество жизни реципиентов сердца, увеличить число излеченных социально адаптированных больных.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ В УСЛОВИЯХ ТКАНЕВОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ И ОТ АВ0-НЕСОВМЕСТИМЫХ ДОНОРОВ

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

Проблема трансплантации печени детям раннего возраста традиционно решается использованием левого латерального сектора печени взрослого донора. Чаще всего имеет место прижизненное родственное донорство при наличии совместимости по системе АВ0. В условиях нарастания печеночной недостаточности при наличии императивных показаний к трансплантации у детей при отсутствии АВ0-идентичных или АВ0-совместимых потенциальных доноров использование АВ0-несовместимых доноров становится единственно возможным вариантом спасения жизни. Исторически считается, что трансплантация органов от донора, не совместимого по группе крови, приводит к более низкой выживаемости трансплантатов и реципиентов из-за значительного увеличения частоты развития отторжения, а также сосудистых и других осложнений. Принципиальным преимуществом трансплантации печени от живого донора является возможность предоперационной подготовки реципиента с целью снижения титра группоспецифических антител перед операцией и снижения риска острого гуморального отторжения. Отсутствие группоспецифических антител у реципиента во время и после АВ0-несовместимой трансплантации является условием предотвращения гуморального отторжения, как сверхострого, так и хронического. Для снижения титров анти-А/В антител проводились попытки применения внутривенной инфузии специфических растворимых антигенов группы крови донора. Более широкое применение получили экстракорпоральные методы элиминации группоспецифических антител – плазмаферез и иммуноадсорбция. Начиная с 1990-х годов, совершенствование протоколов ведения АВ0-несовместимых реципиентов печени, оптимизация иммуносупрессивной терапии и применение плазмафереза и иммуноадсорбции позволили существенно улучшить результаты трансплантации печени. К началу 2000-х годов появились сведения о наибольшей безопасности проведения АВ0-несовместимой трансплантации печени именно у детей, особенно первого года жизни. Изучив данные литературы, посвященные

проведению АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста, можно заключить, что накопленный в мировой практике опыт подобных операций весьма мал и в большинстве опубликованных сообщений из отдельных трансплантационных центров составляет не более 10–20 наблюдений, часто включающих неоднородный по возрасту контингент пациентов. Современные протоколы пред- и послеоперационного ведения таких пациентов в целом схожи, хотя существуют разные мнения в отношении обязательности исследования и (при необходимости) снижения титров группоспецифических антител до и после трансплантации, допустимого для выполнения трансплантации уровня антител, выбора оптимальных схем иммуносупрессивной терапии и методов экстракорпоральной детоксикации.

Исследования состояния иммунной, свертывающей, эндокринной и других важнейших систем поддержания гомеостаза реципиентов в условиях АВ0-несовместимой трансплантации печени немногочисленны и противоречивы.

Количество пациентов с хронической почечной недостаточностью в терминальной стадии, нуждающихся в заместительной почечной терапии, ежегодно увеличивается.

Пересадка почки от живого донора является реальным и эффективным способом преодоления проблемы дефицита органов для трансплантации. Одним из объективных барьеров для увеличения количества трансплантаций почки от живого донора является несовместимость групп крови донора и реципиента. Такая ситуация не является редкой и наблюдается в 20–30% случаев. При этом имеются следующие альтернативы:

- продолжение лечения диализом и ожидание органа от умершего донора;
- поиск другого родственного донора, совместимого по группе крови;
- включение в программу парного обмена донорами для исключения иммунологической несовместимости;
- выполнение АВ0-несовместимой трансплантации с предварительной десенсибилизацией.

Помимо того что длительное лечение диализом в ожидании трансплантации от умершего донора отрицательно сказывается на соматическом статусе пациента и ухудшает результат трансплантации, в настоящее время существуют определенные проблемы с доступностью трансплантации почки в регионах России. Это требует переезда пациента ближе к центру трансплантации, что для многих больных по ряду причин является неприемлемым, и они вынуждены в принципе отказываться от пересадки почки. Случаи, когда у пациента имеется несколько потенциальных родственных доноров, и соответственно, возможность выбора оптимального, крайне редки.

Согласно действующему Закону Российской Федерации «О трансплантации органов и тканей», в качестве живого донора может выступать только человек, находящийся в генетическом родстве с реципиентом, поэтому программа парного обмена в настоящее время не может быть реализована.

Таким образом, в современных условиях преодоление барьера несовместимости по группе крови является перспективным подходом к интенсификации прижизненного донорства, увеличению количества и доступности трансплантаций почки для большого количества пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности.

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

На первом этапе в исследование были включены результаты не совместимых по группе крови родственных трансплантаций почки. Установлены следующие факты и закономерности.

Исходный уровень анти-А/В антител у 60% кандидатов на трансплантацию почки от АВ0-несовместимого донора превышает 1:8, треть из них имеет уровень антигрупповых антител более 1:256. Исходный уровень антител отражает напряженность гуморального звена иммунитета и потребность в более интенсивной десенсибилизации и иммуносупрессивной терапии после трансплантации.

Риск и тяжесть иммунологических осложнений после АВ0-несовместимой трансплантации почки, в первую очередь связаны с исходным уровнем антигрупповых антител и индивидуальными особенностями реагирования иммунной системы реципиента на предоперационную десенсибилизацию.

После трансплантации АВ0-несовместимой почки от живого родственного донора, при сроках наблюдения до 2,5 года, у 90% реципиентов независимо от пересаженного органа наблюдается полное исчезновение анти-А/В антител. У 10% реципиентов восстановление титра антител до исходных значений, превышающих 1:8, не сопровождается иммунологическими осложнениями и дисфункцией пересаженного органа.

Изолированная фиксация компонента С4d-комплемента в биоптатах АВ0-несовместимых органов не является однозначным признаком острого гуморального отторжения, а указывает на активацию гуморального звена иммунного ответа и в ряде случаев может сопровождаться развитием иммунологической аккомодации трансплантата.

Выживаемость трансплантатов в условиях АВ0-несовместимости с донором не хуже, чем аналогичные показатели при совместимых по группе крови трансплантациях.

В задачи исследования в 2014 г. входило следующее.

1. Оценить непосредственные и отдаленные (трехлетние) результаты АВ0-несовместимых родственных трансплантаций почки.
2. Выявить особенности восстановления функции АВ0-несовместимого трансплантата почки.
3. Оценить непосредственные и отдаленные результаты АВ0-несовместимых родственных трансплантаций печени у детей.
4. Провести сравнительный анализ динамики инсулиноподобного фактора роста 1 у детей при АВ0-несовместимой и АВ0-совместимой трансплантации печени.

В результате исследования было установлено следующее.

Результаты АВ0-несовместимых трансплантаций почки при сроке наблюдения до 3 лет не уступают результатам АВ0-совместимых родственных трансплантаций и результатам трансплантаций почки от трупного донора. Одно- и трехлетняя выживаемость трансплантатов после АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки составляет 91,7 и 81,5%, после АВ0-совместимой родственной трансплантации – 96,6 и 93,9%, после трупной трансплантации почки – 90,0 и 83,1%. Не совместимая по группе крови трансплантация почки может рассматриваться как альтернатива ожиданию трупной пересадки почки при наличии не совместимого по группе крови родственного донора.

Отличительной особенностью течения раннего послеоперационного периода у пациентов, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию почки, является транзиторный подъем уровня сывороточного креатинина, развивающийся на 2–3-й послеоперационной неделе, которая спонтанно нормализуется в течение 7–10 дней.

Ближайшие и отдаленные результаты АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста не уступают таковым при АВ0-совместимой трансплантации. В группе детей, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию, выживание в течение месяца, в течение года и в течение 4 лет после операции составило 92,8, 92,8 и 92,8%, при АВ0-совместимой трансплантации – 90,1, 85,3 и 80,7% соответственно.

Трансплантация печени детям раннего возраста сопровождается нормализацией молекулярных механизмов регуляции роста, что проявляется увеличением исходно сниженной концентрации инсулиноподобного фактора роста 1 в крови реципиентов. Уровни этого фактора не различаются у детей после АВ0-совместимой и АВ0-несовместимой трансплантации в ранние (к концу первого месяца, $p = 0,09$) и отдаленные (через год, $p = 0,8$) сроки.

Внедрение в практику здравоохранения полученных результатов НИР на федеральном и региональном уровне позволит увеличить количество родственных трансплантаций почки и печени на 15% в год за счет более эффективного использования возможностей прижизненного донорства. При этом использование индивидуализированных протоколов подготовки и послеоперационного ведения реципиентов позволяет достигать удовлетворительных результатов без применения усиленных режимов иммуносупрессивной терапии и с минимальным количеством осложнений.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТРАНСПЛАНТАТА И РЕЦИПИЕНТА И ПУТИ ПРОЛОНГИРОВАНИЯ ФУНКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТА В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА

Столяревич Е.С., Томилина Н.А., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Ильинский И.М., Готье С.В.

Аллотрансплантация органов является «золотым стандартом» и оптимальным методом заместительной терапии у больных с терминальной стадией заболеваний почек, печени, сердца и легких. Успехи современной клинической трансплантологии определяются прежде всего достигнутым к настоящему времени прогрессом в области изучения биологических и иммунологических аспектов взаимодействия трансплантата и реципиента, а также совершенствованием иммуносупрессии, направленной на профилактику отторжения аллотрансплантата. Особенно актуальными на современном этапе клинической трансплантологии являются задачи, связанные с прогнозированием течения послеоперационного периода, предупреждением осложнений и оценкой эффективности терапии. В последние годы много исследований в клинической трансплантологии посвящено изучению влияния отдельных факторов на отдаленные результаты трансплантации органов, совершенствованию клинико-морфологических методов диагностики осложнений послеоперационного периода, позволяющих осуществлять мониторинг посттрансплантационного периода с помощью неинвазивных (или малоинвазивных) лабораторных технологий.

Особое значение имеет объективизация критериев отбора доноров и реципиентов солидных органов в зависимости от характера заболевания, состояния донорского органа, от наличия, выраженности и сочетания различных потенциальных факторов риска, оказывающих существенное влияние на течение послеоперационного периода, а также оптимизация иммуносупрессии, направленной на профилактику отторжения аллотрансплантата, что позволяет сохранить функцию трансплантированного органа, и соответственно, улучшить отдаленные результаты трансплантации.

При сохраняющейся тенденции к ежегодному росту количества трансплантаций печени в России с использованием ресурсов как прижизненного, так и посмертного донорства представляется важным и своевременным анализ 10-летнего опыта ФНЦТИО, позволяющий проанализировать не только ближайшую, но и отдаленную выживаемость больных и трансплантатов в зависимости от диагноза первичного заболевания, наличия ранней дисфункции трансплантата, а также изучить причины летальности на разных сроках и результаты ретрансплантаций.

На протяжении всей истории клинической трансплантологии отторжение трансплантата оставалось главным препятствием, не позволяющим добиться оптимальных результатов операции. Несмотря на появление новых и все более мощных иммуносупрессантов, позволяющих значительно уменьшить частоту острого отторжения преимущественно в ранние сроки после аллотрансплантации, полностью решить эту проблему до сих пор не удалось. Более того, исследования последних лет показали, что именно отторжение является основной причиной потерь трансплантированной почки в отдаленные сроки после операции. Однако морфологические проявления отторжения столь многообразны, что в реальной клинической практике не всегда удается четко разграничить различные его варианты. В особенности это относится к эпизодам отторжения в поздние сроки после трансплантации почки, когда оно развивается на фоне предсуществующей патологии трансплантата. Сказанное выше определяет актуальность исследований, направленных на изучение механизмов развития отторжения, с выделением различных его вариантов, отличающихся как по клинико-морфологическим проявлениям, так и по прогнозу и требующих, соответственно, различных подходов к лечению.

В течение последнего десятилетия в практике клинической трансплантологии наряду с оригинальными препаратами циклоспорина и такролимуса повсеместно, в том числе и в России, начали применяться их генерические аналоги. С их появлением естественно встают вопросы не только биоэквивалентности оригинальным препаратам, медицинской эффективности и безопасности, но также и их взаимозаменяемости и обращения. Ряд из перечисленных вопросов остаются не решенными до настоящего времени, что определяет сохраняющуюся актуальность сравнительных фармакокинетических исследований различных препаратов циклоспорина.

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

При выполнении первого этапа исследования в 2012 г. была изучена и установлена связь между уровнем биомаркеров, отражающих активацию различных звеньев иммунной системы – макрофагов (неоптерина),

Т-лимфоцитов (растворимого CD30, sCD30), костимулирующей молекулы (растворимой формы лиганда CD40, sCD40L) – с течением посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени и доказано участие сигнальной системы CD40-CD40L в регуляции нарушений метаболизма, связанных с обменом гомоцистеина, при заболеваниях печени и в условиях функционирования печеночного трансплантата в организме реципиента.

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

На втором этапе исследования в 2013 г. была изучена роль предсуществующих анти-HLA антител у кандидатов на трансплантацию различных органов (сердца, почки и печени), оценена роль анти-HLA в развитии гуморального отторжения в раннем и позднем послеоперационном периоде, а также возможность взаимного влияния различных факторов, определяемых по уровню иммунных биомаркеров, на клинические результаты трансплантации. Проанализировано значение уровней гепсидина как потенциально значимого биомаркера при заболеваниях печени и ее трансплантации у детей – реципиентов печени и его связи с уровнями других биомаркеров, значимых в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента и/или являющихся индикаторами развития осложнений в посттрансплантационном периоде; разработка способа прогнозирования клинических результатов трансплантации печени на основе анализа инсулиноподобного фактора роста 1.

Другим направлением работы была разработка оптимальных режимов поддерживающей иммуносупрессивной терапии как основного пути пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента.

На третьем этапе в 2014 г. оценивались отдаленные результаты трансплантации почки и печени, анализировалось влияние отдельных факторов на характер течения послеоперационного периода и отдаленный прогноз для реципиентов и трансплантатов. Так, результаты трансплантации печени оценивались в зависимости от диагноза первичного заболевания и особенностей течения раннего послеоперационного периода. Помимо этого анализировались причины летальности на разных сроках. Проводился углубленный анализ клинико-лабораторных и морфологических характеристик позднего отторжения почечного трансплантата с выделением его различных вариантов, оценкой частоты встречаемости и выделением морфологических и клинических факторов, определяющих прогноз нефропатии при различных типах позднего отторжения трансплантата. Важным аспектом изучения эффективности иммуносупрессивной терапии было проведение фармакокинетического исследования различных

препаратов циклоспорина, использующихся в клинической практике в качестве базового иммуносупрессанта, с последующей оценкой их терапевтической эффективности.

Задачи третьего этапа исследования:

- определить структуру патологии печени, послужившей показанием к трансплантации печени у взрослых, и оценить влияние первичного заболевания печени на клинические результаты трансплантации;
- оценить прогностическое значение отдельных факторов при трансплантации печени, таких как характеристики доноров, методика операции, наличие осложнений и развитие ранней дисфункции в аспекте отдаленных результатов операции;
- проанализировать частоту встречаемости различных вариантов позднего отторжения почечного трансплантата, выявить особенности их клинико-лабораторных проявлений и течения;
- определить частоту встречаемости и прогностическое значение экспресссии C4d-фрагмента комплемента на перитубуллярных капиллярах при различных вариантах острого и хронического отторжения почечного трансплантата;
- оценить биоэквивалентоность генерических препаратов циклоспорина, используемых в клинической практике, оригинальному препарату;
- оценить исходы трансплантации почки и отдаленную выживаемость трансплантатов в зависимости от использования оригинального препарата циклоспорина либо воспроизведенных лекарственных препаратов.

В результате проведенных исследований были сделаны следующие выводы.

Расширение донорских критериев при трансплантации печени способствует увеличению частоты развития ранней дисфункции печеночного трансплантата, а следовательно, оказывает отрицательное влияние на ближайшие и отдаленные результаты операции.

Выживаемость пациентов существенно различается в зависимости от первичного заболевания печени. Наилучшие результаты демонстрируют пациенты с циррозом невирусной этиологии, неудовлетворительные результаты закономерно отмечены у больных с гепатоцеллюлярной карциномой.

Патология почечного трансплантата, ассоциированная с активацией иммунного ответа, включает в себя широкий спектр изменений, различающихся по патогенетическим механизмам, морфологической картине, течению и прогнозу, что требует, соответственно, различных подходов к лечению этих форм отторжения.

Диффузное свечение C4d на перитубуллярных капиллярах, выявляемое методом иммунофлюоресценции, ассоциировано с худшим прогнозом ос-

трого отторжения почечного трансплантата независимо от его морфологической картины. При хроническом отторжении трансплантата свечение C4d не оказывает отрицательного влияния на прогноз нефропатии.

Генерические препараты циклоспорина отличаются от оригинального препарата и друг от друга по физико-химическим свойствам, фармакокинетическим характеристикам и клиническому эффекту. Биоэквивалентность генерического препарата оригинальному должна быть доказана для каждого препарата циклоспорина, прежде чем он будет введен в клиническую практику.

Резюмируя результаты всего исследования, можно констатировать следующее.

В результате проведенных исследований была доказана связь уровней биомаркеров, отражающих активацию макрофагов (неоптерина), Т-лимфоцитов (растворимого CD30, sCD30), тромбоцитов (растворимой формы лиганда CD40, sCD40L) с течением посттрансплантационного периода у детей – реципиентов печени.

Доказано участие сигнальной системы CD40/CD40L в регуляции нарушений метаболизма, связанных с обменом гомоцистеина, при заболеваниях печени и в условиях функционирования печеночного трансплантата в организме реципиента.

У детей с циррозом печени в исходе врожденных и наследственных заболеваний гепатобилиарной системы предсуществующие анти-HLA-1 выявляются преимущественно у пациентов с исходно высоким уровнем sCD40L (82% случаев). Концентрации sCD40L после трансплантации печени достоверно увеличивается именно у пациентов с предсуществующими анти-HLA I класса. Наличие связи уровня sCD40L с выявлением антител к HLA I класса может служить дополнительным основанием для предположения об участии sCD40L в формировании иммунных взаимоотношений трансплантата и реципиента. У детей с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы средняя концентрация гепсидина в плазме крови достоверно выше таковой у здоровых детей того же возраста. Уровень гепсидина связан с тяжестью анемии, концентрациями биомаркеров воспаления/оксидативного стресса.

Разработанные патогистологические критерии оценки донорской печени могут быть использованы в качестве объективного критерия при отборе потенциальных посмертных доноров печени.

Анализ концентрации инсулиноподобного фактора роста 1 при трансплантации печени детям раннего возраста может быть использован для прогнозирования течения посттрансплантационного периода.

Были изучены клинико-лабораторные особенности различных морфологических форм острого и хронического отторжения почечного трансплантата, их влияние на течение и прогноз позднего послеоперационного периода. Выявлено важное прогностическое значение экспрессии C4d-

компонента комплемента (по данным иммуногистохимического исследования) на перитубуллярных капиллярах при остром и активном хроническом отторжении.

На основании проведенных клинических исследований были разработаны режимы иммуносупрессивной терапии, позволяющие добиться адекватной иммуносупрессии при различных осложнениях позднего послеоперационного периода. Так, конверсия с циклоспорина А на такролимус в условиях стабильной функции трансплантата создает условия для безопасной минимизации/отмены кортикостероидов, а у пациентов с отторжением (острым либо активным хроническим) способствует замедлению темпов прогрессирования нефропатии и улучшает выживаемость трансплантатов почки. При сформировавшейся CNI-нефротоксичности снижение дозы циклоспорина в комбинации с микофенолатами в полной дозе и конверсия на ингибиторы пролиферативного сигнала с минимизацией дозы ингибиторов кальциневрина равно эффективны в отношении торможения дисфункции трансплантированной почки, обусловленной CNI-ассоциированной нефропатией. Выбор тактики лечения у таких пациентов должен определяться индивидуальной переносимостью препаратов и возможностью их применения в эффективной дозе.

Проведено исследование биоэквивалентности и клинической эффективности генерических препаратов циклоспорина в сравнении с оригинальным препаратом и выявлены существенные их различия по физико-химическим свойствам, фармакокинетическим характеристикам и клиническому эффекту. На основании проведенного исследования сделан вывод о том, что биоэквивалентность генерического препарата оригинальному должна быть доказана для каждого препарата циклоспорина, прежде чем он будет введен в клиническую практику.

На основании проведенных исследований было доказано участие ряда клинико-лабораторных, иммунных и морфологических факторов в развитии отторжения трансплантата, изучено их влияние на течение послеоперационного периода и отдаленный прогноз после трансплантации солидных органов. Это, в свою очередь, позволило разработать пути оптимизации послеоперационного мониторинга, совершенствовать подходы к иммуносупрессивной терапии, и соответственно, улучшению клинических результатов трансплантации.

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

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ НИР ПО НАПРАВЛЕНИЮ «РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА, КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, СОЗДАНИЕ БИОИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ»

СИСТЕМНЫЙ МИКРО- И НАНОСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Ефимов А.Е., Агапова О.И., Агапов И.И.

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

Низкотемпературная микроскопия высокого разрешения на сегодняшний день является самым мощным инструментом для достижения этой цели. Применяемые в настоящее время для подобных исследований методы электронной микроскопии и электронной томографии кроме несомненных достоинств имеют и ряд недостатков и ограничений, вызванных физическими принципами измерений и формирования контраста в данных методах, а также чрезвычайно высокую стоимость оборудования для исследований и трудоемкость подобных работ. Данные ограничения особенно заметно проявляются в задачах анализа биологических и полимерных материалов, состоящих преимущественно из легких химических элементов. Методы сканирующей зондовой микроскопии – неразрушающего анализа структуры поверхности с наноразмерным разрешением – позволяют обойти такие ограничения электронной микроскопии, как нарушения структуры образцов, вызванных химической фиксацией образца, повреждения электронным пучком, слабый электронно-микроскопический контраст.

Объединение техники ультрамикротомии с последовательным анализом наноструктуры поверхности после произведенного среза методом сканирующей зондовой микроскопии представляет перспективный подход к исследованию трехмерной наноструктуры широкого класса био-

логических и полимерных объектов и материалов. Комбинация данных техник в рамках одного интегрированного устройства (рис. 1) позволяет производить АСМ-измерения поверхности блока изучаемого материала без перемещения образца непосредственно после сверхтонкого среза в рабочем цикле ультрамикротома. При этом на поверхности блока практически отсутствуют артефакты, возникающие при проведении механического среза (сжатие, растяжение, деформация и др.), что повышает точность и надежность проводимых измерений. Для получения серии АСМ-изображений одного и того же участка поверхности производятся последовательные срезы образца с заданной толщиной (от 20 нм) и измерения морфологии поверхности и карт распределения физических свойств изучаемых объектов после каждого среза. Автоматизация и оптимизация измерительного цикла позволяет получать до 10 последовательных изображений в час и несколько десятков изображений в течение одного эксперимента. Данный метод сканирующей зондовой нанотомографии (СЗНТ) позволяет восстанавливать трехмерные структуры объектов и получать информацию о трехмерной морфологии и локальном распределении ряда физических свойств, а также о трехмерном распределении компонент (например наночастиц и кластеров) в объеме нано- и биоматериалов.

Выполнение качественных сверхтонких срезов поверхности при помощи ультрамикротома требует, чтобы во время среза алмазным ножом не происходила пластическая деформация образца. Для ряда биологических образцов и мягких полимерных материалов с температурой стеклования

Рис. 1. **Экспериментальная установка для сканирующей зондовой нанотомографии Ntegra Tomo, комбинирующая ультрамикротом и сканирующий зондовый микроскоп**

Tg ниже комнатной это условие выполняется только при выполнении срезов при низкой температуре (криоультрамикротомия), когда и нож, и образец помещаются в специальную криокамеру, охлаждаемую жидким азотом. Для реализации технологии СЗНТ в криогенных условиях был разработан экспериментальный сканирующий зондовый микроскоп SNOTRA (рис. 2), интегрированный в криокамеру ультрамикротома и позволяющий выполнять измерения поверхности блока образца непосредственно после среза при низкой температуре (до –190 °С). Использование данного прибора в совокупности с необходимыми технологиями подготовки образца (витрификация – замораживание при высоком давлении) позволит значительно расширить спектр применений метода СЗНТ для анализа нативных биологических структур и гидратированных материалов.

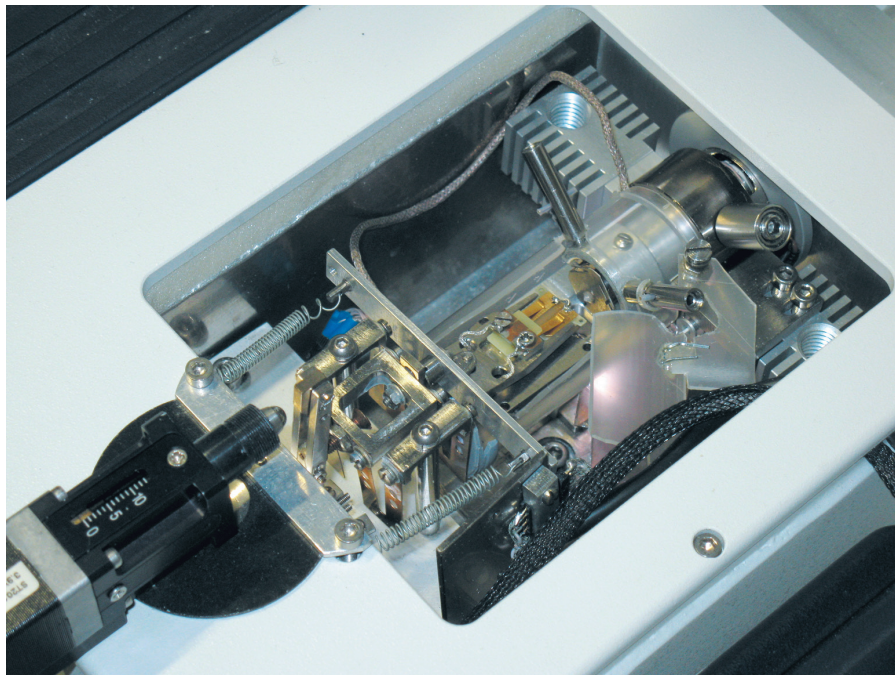


Рис. 2. **Экспериментальная установка для низкотемпературной сканирующей зондовой нанотомографии SNOTRA, комбинирующая криоультрамикротом и сканирующий зондовый микроскоп, расположенный непосредственно в криокамере Leica EM FC6**

Одним из перспективных направлений развития разрабатываемого метода нанотомографии является визуализация и исследование трехмерных наноструктур, топологии и характеристик систем микро- и нанопор в объеме микро- и нанопористых полимерных биодеградируемых матриксов-

носителей. Такие параметры, как размер, степень пористости, взаимосвязанность пор в объеме материала и отношение площади поверхности пор к занимаемому объему на микро- и наноуровне имеют значительное влияние на эффективность использования носителей из биодеградируемых материалов для задач регенеративной медицины, в частности на однородность распределения клеток в матриксе и эффективность регенерации нативной ткани *in vivo*.

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

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

Задачи исследования

1. Отработка методик количественной оценки параметров и характеристик систем взаимосвязанных микро- и нанопор в биосовместимых трехмерных носителях на основе данных трехмерных реконструкций, полученных при помощи СЗНТ.
2. Исследование с помощью методов СЗНТ внутренней наноструктуры микроволокон, полученных из биополимеров при помощи технологии электроспиннинга.

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

Используемые средства, материально-техническое оснащение: криоультрамикротом Leica EM UC6/FC6 (Leica Microsystems GmbH, Австрия), совмещенный с прототипом криоСЗМ для сканирующей зондовой нанотомографии; зондовая нанолаборатория Ntegra Tomo (NT-MDT, Москва); сканирующий зондовый микроскоп NST Certus; атомно-силовой микроскоп Solver P47 (NT-MDT, Москва); сканирующий электронный микроскоп Jeol JSM 6360 LA (Jeol, Япония), оптический микроскоп Opton, model CX41RF-3; комплект оборудования для оптической и атомно-силовой микроскопии, центрифуги, pH-метры, весы, мешалки, инкубаторы, оборудование для клеточной биологии (стерильные боксы, CO_2-инкубатор), холодильники, морозильники, хроматографы, оборудование для получения особо чистой воды, спектрофотометр, автоматические пипетки. Персональные компьютеры, лицензионное программное обеспечение.

Результаты

Отработана методика количественной оценки параметров и характеристик систем взаимосвязанных микро- и нанопор в биосовместимых трехмерных носителях на основе данных трехмерных реконструкций, полученных при помощи СЗНТ. С помощью данной методики выполнены исследования структуры трехмерных матриксов из спидроина rS1/9 (рекомбинантного аналога белка паутины).

На рис. 3, а, приведено обзорное АСМ-изображение (95,0 × 95,0 мкм^2) поверхности блока залитого в эпоксидную смолу матрикса на основе спидроина rS1/9 после среза ультрамикротомом. На данном изображении видны пористые стенки матрикса толщиной от 5 до 15 микрон, разделяющие макропоры размером от 50 микрон и более.

На рис. 3, б, представлено одно из АСМ-изображений поперечного среза стенки макропоры размером 25,0 × 25,0 мкм^2. Толщина стенки макропоры на данном участке составляет от 6 до 12 мкм. На изображении видно наличие в стенке макропоры значительного количества наноразмерных и субмикронных пор размерами от 25 до 700 нм. Статистический анализ серии двумерных АСМ-изображений с помощью программного пакета Image Analysis Nova 1.0.26.1443 позволяет определить для данных изображений распределение пор по размерам и степень пористости как отношение суммарной площади всех пор к общей площади поверхности среза стенки макропоры. Вычисленная таким образом степень пористости составляет 21,7% при среднем диаметре пор порядка 150 нм. Среднее количество пор на единицу площади составляет 3,81 мкм$^{-2}$.

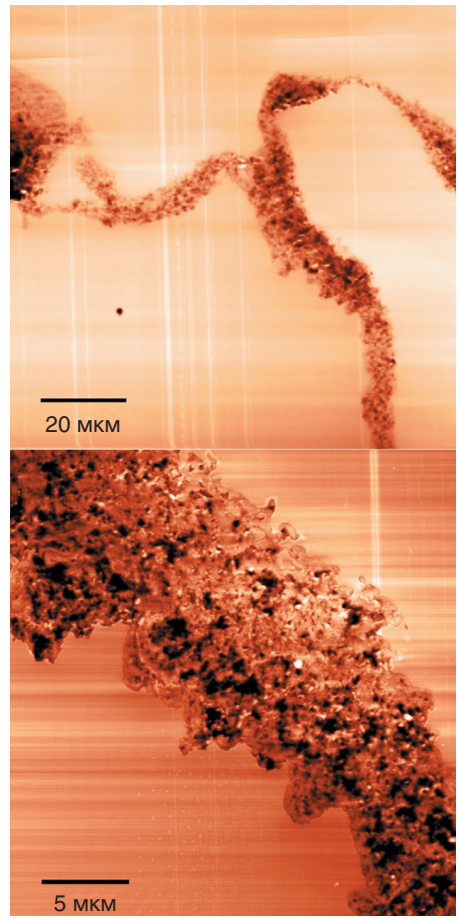


Рис. 3. **АСМ-изображения топографии поверхности блока матрикса на основе спидроина rS1/9 после среза ультрамикротомом: а) размер скана 95,0 × 95,0 мкм^2, диапазон вариации высоты 300 нм; б) размер скана 25,0 × 25,0 мкм^2, диапазон вариации высоты 100 нм**

Для выполнения трехмерной реконструкции структуры матрикса в объеме нами была получена серия из 25 АСМ-изображений топографии поверхности стенки макропоры после последовательных срезов ультрамикротомом толщиной в 100 нм.

На рис. 4, а, представлена трехмерная реконструкция стенки макропоры матрикса в объеме 16,0 × 16,0 × 2,5 мкм, полученная с помощью программного пакета 3DConstructor Image Pro AMS 6.0 (MediaCybernetics, Inc.). Для получения данного изображения было выполнено совмещение всех полученных АСМ-изображений серии и визуализация в заданном объеме с учетом физических размеров вокселов (объемных пикселов), задаваемых соответственно толщиной срезов и разрешением исходных АСМ-изображений.

На рис. 4, б, представлена визуализация пор в том же исследуемом объеме, полученная при помощи инвертирования и пороговой бинаризации исходной изображений. На данном изображении объем пор отмечен зеленым цветом, в то время как объем самого материала сделан невидимым. Численный статистический анализ полученных данных позволяет определить объемный коэффициент пористости стенки матрикса, который составляет 22%. Это согласуется со значением, которое мы получили при анализе исходных двумерных АСМ-изображений.

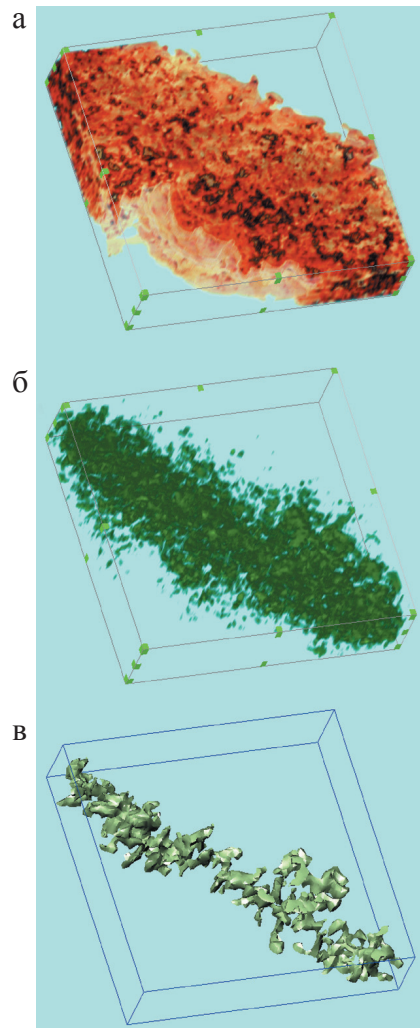


Рис. 4. **Трехмерная реконструкция структуры стенки макропоры матрикса, 16,0 × 16,0 × 2,5 мкм³: а) визуализация объема материала; б) визуализация объема нанопор; в) протяженный кластер взаимосвязанных нанопор**

Данное значение объемной пористости превосходит стандартный объемный порог перколяции для трехмерных систем, составляющий 16%. Это означает, что, согласно теории перколяции, при таком уровне объемной пористости заметная часть пор соединяется в перколяционные кластеры, размер которых может значительно превосходить характерные размеры единичных пор. Используемое нами программное обеспечение позволяет выделить взаимосвязанные кластеры нанопор и определить их параметры путем построения соответствующих изоповерхностей в трехмерном объеме. Так, на рис. 4, в, приведена визуализация типичного протяженного кластера пор в том же исследуемом объеме, который соединяет поры вдоль всей длины данного участка стенки макропоры. Длина данного кластера составляет около 22 мкм при общей площади поверхности 253 мкм^2. Статистический анализ подобных кластеров позволяет определить, что в среднем объем нанопор, соединенных в подобные кластеры наноканалов, составляет 4,4% от общего объема материала, или, соответственно, около 20% от объема всех нанопор.

Определенные нами параметры пористости позволяют предположить, что стенки подобного матрикса имеют высокую степень проницаемости для жидкостей, в том числе для продуктов обмена веществ клеток *in vitro* и *in vivo*. Существование в матриксе пор со средними размерами около 150 нм позволяет обеспечить проникновение глубоко в матрикс аминокислот, пептидов и других функционально активных веществ. Мы предполагаем, что именно формирование наблюдаемой нами связной системы нанопор в стенках матриксов из спидроина rS1/9 является одним из ключевых факторов, обеспечивающих высокую эффективность неоваскуляризации и неоиннервации, наблюдаемых при имплантации подобных матриксов *in vivo*.

Отработанная нами методология исследования количественных характеристик и топологии систем субмикронных пор и нанопор при помощи сканирующей зондовой нанотомографии применима как к биополимерным и биосовместимым материалам, так и к другим пористым полимерным материалам: фильтрационные и каталитические мембраны, применяемые для решения ряда задач в сфере медицинской биотехнологии, энергетики и экологии.

Отработана методика подготовки образцов и исследования с помощью методов СЗНТ внутренней наноструктуры микроволокон, полученных из биополимеров при помощи технологии электроспиннинга. Для исследований были использованы волокна на основе рекомбинантного спидроина rS1/9 диаметром около 1 мкм.

На рис. 5 показаны АСМ-изображения залитого в эпоксидную смолу микроволокна на основе спидроина rS1/9 после поперечного среза ультрамикротомом. Измерения методом отображения фазы (рис. 5, б) позво-

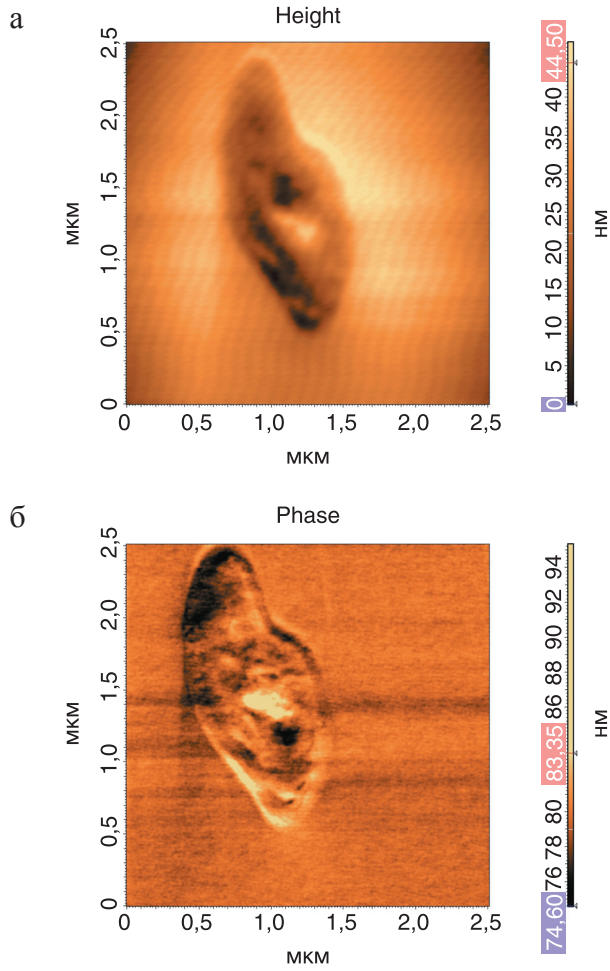


Рис. 5. **АСМ-топография (а) и фазовое изображение среза микроволокна спидроина (б), 2,5 × 2,5 мкм. На фазовом контрасте различимы наноструктурные особенности**

ляют наблюдать структурные особенности, неоднородности, и возможно, поры с характерными размерами до 20–30 нм.

Заключение

Полученные результаты демонстрируют, что разработанный метод низкотемпературной сканирующей зондовой нанотомографии может быть использован для визуализации и исследования трехмерных нативных наноструктур в объеме микро- и нанопористых полимерных биодеградируемых матриксов-носителей и микроволокон на основе биодеградируемых

полимеров. Использование метода низкотемпературной сканирующей зондовой нанотомографии для анализа количественных характеристик и параметров систем микро- и нанопор, а также наноструктуры микроволокон, полученных с помощью электроспиннинга, позволит повысить эффективность разработок по созданию новых биосовместимых и биодеградируемых материалов с заданными физико-химическими и биологическими характеристиками.

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

РАЗРАБОТКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ИЗ КУЛЬТУР ОСТРОВКОВЫХ КЛЕТОК И БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ НОСИТЕЛЕЙ С ЦЕЛЬЮ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ β-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Скалецкий Н.Н., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И.

В течение последнего десятилетия показано, что применение интрапортальной аллотрансплантации островков поджелудочной железы, полученных от 2–4 трупных доноров, позволяет добиться инсулинонезависимости в течение 1 года у 50–60% пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. Однако улучшение полученных результатов, и тем более широкое применение указанного трансплантационного метода, невозможно по двум основным причинам, первая из которых – дефицит доноров, которыми оказываются чаще всего люди, погибшие от черепно-мозговой травмы, и вторая – необходимость постоянного приема иммуносупрессивных препаратов. Устранение второй проблемы может быть в определенной степени решено путем снижения иммуногенности островковых клеток в результате их специальной предтрансплантационной обработки и/или иммуноизоляции клеточного препарата с помощью его микро- или макроинкапсуляции. Актуальным направлением может стать разработка биомедицинских клеточных продуктов для регенерации β-клеток у больных сахарным диабетом.

Целью работы является разработка экспериментальной модели тканеинженерной конструкции поджелудочной железы, состоящей из культур островковых клеток кроликов и биополимерного микрогетерогенного коллагенсодержащего гидрогеля (биоматрикса).

Исходя из поставленной цели определены основные задачи работы:

– изучить морфологические особенности поджелудочной железы кроликов различного возраста (новорожденных и взрослых) с целью определения эффективных методических подходов к выделению жизнеспособных и гормонально-активных островков как клеточного компонента тканеинженерной конструкции поджелудочной железы;

– изучить влияние имплантации культур островковых клеток на уровень гликемии и процессы регенерации β-клеток у лабораторных животных с экспериментальным сахарным диабетом;
– определить влияние биополимерного микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогеля (БМКГ) на формирование флотирующих островковоподобных культур и изучить возможности коррекции их морфофункциональных свойств на различных сроках инкубации;
– изучить влияние БМКГ на формирование культур прогениторных клеток поджелудочной железы;
– найти оптимальный состав экспериментальной модели тканеинженерной конструкции поджелудочной железы;
– создать воспроизводимую экспериментальную модель сахарного диабета 1-го типа;
– исследовать в условиях *in vivo* функциональную эффективность экспериментальной модели тканеинженерной конструкции поджелудочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Донорами поджелудочной железы служили взрослые (масса тела 2–2,5 кг) и 1–3-дневные новорожденные кролики, доставленные из специализированного питомника ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Культуры островковых клеток поджелудочной железы получали с помощью разработанного нами метода, в основе которого лежит длительное (не менее 10 сут) культивирование очищенной от крупных сосудов и выводных протоков механически измельченной панкреатической ткани. Выращивание культур проводили в стандартных культуральных флаконах фирмы Corning.

В качестве биополимерного микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогеля (БМКГ) использовали специально разработанную для клеточных технологий композицию имплантируемого гетерогенного геля линейного ряда *Сферо*®ГЕЛЬ (ЗАО «БИОМИР сервис», Россия), представляющую собой находящийся в шприце стерильный прозрачный, слегка опалесцирующий, вязкий, pH-сбалансированный гидрогель с зернистой структурой. Средний размер микрочастиц составлял 150 ± 20 мкм, вязкость МКГМ – 62,9 ± 7,9 Па и pH – 6,8 ± 0,1.

Совместную инкубацию культур островковых клеток и БМКГ проводили в наклонных CO^2-проницаемых культуральных пробирках конической формы с горизонтальным дном площадью 10 $см^2$ (фирма TPP, Швейцария). Смену среды осуществляли каждые 2–3 дня.

Наблюдение за формированием культур островковых клеток, а также за процессами, происходящими при их совместной инкубации с биомат-

риксом (МКГМ), проводили через инвертированный микроскоп Nikon Eclipse TS 100 путем ежедневного мониторинга, и значимые изменения фиксировали с помощью цифровой фотокамеры.

Для гистологического исследования на определенных сроках получения различного типа культур островковых клеток и прогениторных клеток поджелудочной железы, а также в процессе совместной инкубации культур и БМКГ (через 7 и 14 дней) материал фиксировали в жидкости Буэна. После рутинной процедуры обезвоживания образцы заливали в парафин. Среды толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также подвергали иммуногистохимическому окрашиванию по стандартной методике с пероксидазой хрена для выявления основных типов островковых клеток с использованием соответствующих моноклональных антител: antiinsulin и antiglucagon (фирма Sigma). Для выявления протокового эпителия окрашивание препаратов на цитокератин 19 осуществляли с использованием Novocastra Concentrated Peroxidase Detection System (RE 7130-K, Leica Microsystems), следуя инструкции производителя. Предварительно перед окрашиванием депарафинированные срезы подвергали ретривизации инкубацией в 0,1%-ном растворе трипсина при 37 °С в течение 30 мин.

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

Содержание инсулина в культуральной жидкости определяли с помощью набора для иммуноферментного анализа фирмы DRG (Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении морфологических особенностей поджелудочной железы новорожденных и взрослых кроликов выявлено преимущественное расположение островков в хвосте поджелудочной железы взрослых кроликов, в то время как в поджелудочной железе новорожденных кроликов определено равномерное расположение островков по всей массе органа. Слабое развитие экзокринной ткани и почти диффузное расположение небольших островков в неонатальной поджелудочной железе позволило получать жизнеспособные островковые клетки без применения предварительной ее ферментной обработки и других манипуляций, как правило, неизбежных при использовании поджелудочной железы взрослых особей. Были разработаны методы, обеспечивающие получение различ-

ного типа культур из поджелудочной железы новорожденных кроликов, содержащих как гормонально-активные островковые клетки, так и прогениторные клетки, являющиеся предшественниками островковых клеток. В качестве клеточной компоненты ТИК ПЖ были выбраны культуры островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов. Полученные из поджелудочной железы новорожденных кроликов островковоподобные клеточные культуры представляют собой флотирующие (свободно плавающие) компактные шарообразные или овоидные структуры, близкие по своим морфофункциональным характеристикам нативным островкам поджелудочной железы животных-доноров. Специфическое иммуногистохимическое окрашивание полученных флотирующих культур подтвердило наличие в них значительного количества инсулинсодержащих клеток – β-клеток. Инсулинпродуцирующая способность полученных культур островковых клеток была подтверждена иммуноферментным анализом культуральной жидкости: концентрация инсулина колебалась обычно в пределах 3200–7700 мкед/мл.

Было показано, что применение биополимерного микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогеля (БМКГ) в качестве биорезорбируемого матрикса в ТИК ПЖ обеспечивает благоприятные условия для сохранения морфофункциональных свойств флотирующих островковоподобных культур. С целью определения наилучшей совместимости флотирующих культур островковых клеток с БМКГ-матриксом использовали культуры с различным сроком инкубации – от 7 до 14 сут. Оказалось, что оптимальной клеточной компонентой для ТИК ПЖ являются культуры со сроком инкубации 12–14 сут. При использовании же 7–10-дневных культур для совместной инкубации с биоматриксом происходило практически полное растворение последнего через 3–4 сут. Проведенные длительные (21 день) наблюдения с помощью инвертированного микроскопа показали необходимость присутствия постепенно биорезорбирующего биоматрикса для процесса формирования флотирующих культур и длительного сохранения островковоподобных структурных особенностей. Исследование функциональных возможностей таких культур показало их способность адекватно реагировать выбросом инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой, аргинином и теофиллином.

Для доказательства функциональной активности ТИК ПЖ была отработана воспроизводимая экспериментальная модель сахарного диабета 1-го типа (крысы, порода Вистар), которая при определенном режиме введения стрептозотоцина (внутрибрюшинно дробно в течение 5 дней подряд в суммарной дозе 70 мг на 1 кг массы тела животного) обеспечивает стабильное и длительное сохранение выраженного диабетического статуса. Определяли не только сахароснижающий эффект выполненной имплантации, но и ее влияние на островковый аппарат собственной поджелудочной железы крыс-реципиентов. В опытах и контроле использо-

вали только крыс линии Wistar, у которых уровень гипергликемии через 2 нед. после введения стрептозотоцина превышал 20 ммоль/л. Восьми подопытным крысам через силиконизированный катетер внутрибрюшинно вводили ТИК ПЖ. Восьми контрольным крысам (нелеченый сахарный диабет) был введен физиологический раствор. Каждая доза ТИК ПЖ представляла собой 6–7 мл суспензии, состоящей из 2,2 ± 0,4 млн флотирующих островковых клеток, предварительно инкубированных с БМКГ в течение 10–12 сут, и фрагментов частично резорбировавшего БМКГ в культуральной среде. Контрольным животным инъецировали аналогичный объем физиологического раствора. Гликемию определяли еженедельно. На протяжении всего срока наблюдения (8 нед.) у крыс контрольной группы сохранялись выраженные признаки диабетического статуса (сниженная масса тела, гиподинамия, полидипсия, полиурия и др.). В противоположность этому в подопытной группе крыс-реципиентов уже через 2 нед. значительно улучшилось общее состояние животных, практически исчезли характерные клинические признаки сахарного диабета, восстановилась прибавка в массе тела. При этом было отмечено существенное снижение уровня гипергликемии, и к исходу 4–5 нед. содержание глюкозы в крови, даже не натощак, не превышало 11 ммоль/л.

Таким образом, было установлено, что внутрибрюшинное введение крысам с индуцированным тяжелым сахарным диабетом ТИК поджелудочной железы приводит к значительному и стойкому снижению уровня гликемии, субнормальный уровень которого сохраняется, по меньшей мере, на протяжении 8 нед. (заданный общепринятый срок наблюдения) после имплантации. Гистологическое исследование поджелудочной железы опытной группы крыс по окончании эксперимента (через 8 нед. после внутрибрюшинного введения ТИК ПЖ) выявило признаки активной регенерации β-клеток в островке поджелудочной железы крысы-реципиента со стрептозотоциновым сахарным диабетом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальная модель тканеинженерной конструкции поджелудочной железы, состоящая из биополимерного микроструктурированного коллагенсодержащего гидрогеля, 12–14-дневных флотирующих культур островковых клеток поджелудочной железы новорожденных кроликов и инкубационной среды, может служить основой при создании биомедицинского клеточного продукта для стимуляции регенерации поджелудочной железы человека с сахарным диабетом 1-го типа.

РАЗРАБОТКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ХРЯЩА

Севастьянов В.И., Григорьев А.М., Скалецкий Н.Н., Готье С.В.

Остеоартроз – заболевание периферических и/или центральных (позвоночных) суставов с деструкцией суставного хряща и дегенеративными изменениями в эпифизах сочленяющихся костей, с формированием субхондральных костных кист и краевых костных разрастаний. Отсутствие кровоснабжения и низкий уровень метаболизма из-за малого количества клеток в единице объема ткани приводят к тому, что полноценная собственная регенерация хряща возможна лишь при небольших по площади повреждениях. Применение таких техник, как стимуляция костного мозга, субхондральное просверливание кости, микропереломы и попытка закрытия дефекта надкостничными или перехондриальными трансплантатами, не всегда приводит к приемлемым результатам. Разработка технологий клеточной и тканевой инженерии, заключающихся в трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на матриксах-носителях, представляет собой перспективный способ лечения дефектов хряща с использованием функциональных тканевых заменителей.

В ранее проведенных исследованиях было установлено, что оптимальными условиями формирования хрящевой ткани *in vitro* являются хондрогенная дифференцировка МСК жировой ткани человека (МСК ЖТч) в процессе культивирования в биополимерном гетерогенном гидрогеле при плотности посева 2×10^6 кл/мл матрикса. К 42-м суткам хондрогенной дифференцировки в условиях *in vitro* обнаружен синтез клетками коллагена II типа и ГАГ, которые являются основными компонентами хрящевой ткани. В условиях *in vitro* и *in vivo* была доказана биологическая безопасность разработанной клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани человека (КИК ХТч) на основе биополимерного гетерогенного гидрогеля и недифференцированных МСК ЖТч. На экспериментальной модели подкожной имплантации выявлены некоторые признаки формирования хрящевой ткани в месте имплантации КИК ХТч мышам-самцам линии DBA.

Целью работы является исследование функциональной эффективности клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани на основе био-

полимерного гидрогелевого коллагенсодержащего матрикса и мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека в условиях *in vivo*.

ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ РАБОТЫ

– Отработать экспериментальную модель адъювантного артрита с переходом в артроз.
– Исследовать функциональную эффективность клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани человека (КИК ХТч) при ее введении в коленные суставы животных на экспериментальной модели адъювантного артрита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве биодеградируемого матрикса был выбран зарегистрированный в России биополимерный микроструктурированный коллагенсодержащий гидрогель (БМКГ) – композиция гетерогенного имплантируемого геля (торговый знак *Сферо*®ГЕЛЬ, ФСР 2012/13033 от 01.02.2012 г., производитель ЗАО «БИОМИР сервис», г. Краснознаменск, Россия). Используемая в качестве матрикса инъекционная форма БМКГ из линейного ряда Сферо®ГЕЛЬ имела следующие характеристические свойства: средний размер микрочастиц – 145,79 ± 0,09 мкм; модуль упругости – 1170 ± 12 Па; модуль вязкости – 62,9 ± 7,9 Па; набухаемость – не ниже 86,6 ± 3,0 масс.%; время биорезорбции БМГМ – до 9 мес.

В качестве источника клеточной компоненты КИК ХТч была выбрана подкожно-жировая клетчатка человека. Выделение и культивирование МСК ЖТч из образцов подкожно-жировой клетчатки человека проводили по ранее оптимизированной методики.

КИК ХТч оптимального состава, доказанного в экспериментах *in vitro*, получали непосредственно перед введением в сустав. В стерильный двухмиллилитровый шприц, содержащий 1 мл БМКГ, прогретый в термостате до 37 °С, набирали 1 мл суспензии МСК ЖТч на 2–3-м пассаже, приготовленной в индукционной хондрогенной среде STEMPRO® Chondrogenesis Differentiation Kit (Invitrogen, США). На мешалке «Вортекс» осуществляли перемешивание КИК ХТч в шприце. Конечная концентрация МСК ЖТч в БМКГ составляла 2×10^6 кл/мл матрикса. Непосредственно до манипуляций по внутрисуставному введению КИК ХТч шприцы находились в CO_2-инкубаторе при температуре 37 °С не более 2 ч.

Экспериментальная модель адъювантного артрита. Для доказательства возможности репаративной регенерации хрящевой ткани при внутрисуставном введении КИК ХТч была выбрана экспериментальная модель адъювантного артрита с дальнейшим развитием в артроз.

Все экспериментальные животные были рандомизировано разбиты на 3 группы. Животные группы 1 (3 кролика) и группы 2 (3 кролика) были использованы для создания экспериментальной модели остеоартроза. Через 53 сут от начала эксперимента кроликам 1-й группы в левый коленный сустав вводили 0,5 мл КИК ХТч, кроликам 2-й группы – БМКГ в том же количестве. В обеих группах правый коленный сустав служил контролем (модель артроза). Для сравнительного анализа были использованы интактные кролики – 3-я группа (2 кролика, 4 сустава). Все манипуляции с животными (кролики-самки породы Советская шиншилла) проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986).

Перед внутрисуставным введением КИК ХТч и БМКГ кроликов группы 1 и 2 однократно иммуносупрессировали сандиммуном (содержание активного вещества циклоспорина 50 мг/мл) в дозе 5 мг/кг. Для обезболивания при внутрисуставном введении образцов БМКГ и КИК ХТч использовали лидокаин-спрей. Продолжительность наблюдения за животными после внутрисуставного введения образцов БМКГ и КИК ХТч составляла 2 мес. Общая продолжительность эксперимента, включая моделирование ОА, составила 118 сут.

В течение исследования вели наблюдение за каждым животным, включающее в себя визуальный осмотр (внешний вид, состояние шерстного покрова, глаз, носа, характер дыхания, поведение, реакция на внешние раздражители, болевая реакция, потребление корма и воды, количество и консистенция фекальных масс, частота мочеиспускания и цвет мочи). Измеряли объем коленного сустава (с помощью сантиметровой ленты) и локальной температуры (с помощью бесконтактного термометра, Rycom), клинический и биохимический анализ крови (СОЭ, количество лейкоцитов, концентрация С-реактивного белка в сыворотке крови). Забор крови производили из краевой вены уха после 18 часов голодания. Для клинического анализа кровь отбирали в специальные пробирки «Юнивет» с антикоагулянтом ЭДТА. Анализы проводили на гематологическом анализаторе «Медоник» (Швеция) для ветеринарии. Для биохимических анализов кровь отбирали в специальные пробирки с гранулами для отделения сыворотки. Биохимический анализ проводили унифицированным методом на биохимическом анализаторе «Стат факс 4500+» (США) с использованием стандартного набора реагентов CRP FS (DiaSys, Германия).

Рентгенологические исследования выполняли на аппарате АРД-2 в двух стандартных взаимно перпендикулярных проекциях (прямой и боковой) до начала создания экспериментальной модели, на 25-е и 90-е сутки после моделирования ОА.

Животных выводили из эксперимента методом воздушной эмболии с предварительной анестезией препаратом Золетил 100 фирмы Virbac в дозе 10 мг/кг. Фрагменты костей бедра и голени вместе со структурами коленного сустава фиксировали в 10% растворе забуференного формалина не менее 48 ч, декальцинировали в электролитном декальцинирующем растворе (фирма «Лабпоинт», Россия) в течение 48–72 ч, обезвоживали через БЛИ и заключали в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, изучали на световом микроскопе Nicon (Япония) при увеличении до 200 раз.

Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m), значения которых представлены в итоговых таблицах. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica ver. 7.0. Достоверность отличий между группами данных оценивали с применением t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Внешний вид и поведение. Во всех группах животные выглядели здоровыми, охотно поедали корм, реагировали на внешние раздражители, проявляли интерес к людям. Все показатели (внешний вид, мышечный тонус, рефлексы, зоосоциальное поведение и др.) соответствовали физиологической норме. На 25-е сутки моделирования ОА у животных наблюдали беспокойство при их передвижении, хромоту при активных движениях. Этот факт свидетельствует о болевых ощущениях в области пораженного коленного сустава. При измерении объема движений в суставе отмечали их ограниченность.

Клинические исследования. На протяжении эксперимента кроликам четырежды измеряли объем коленных суставов и локальную температуру. Увеличение объема и локальной температуры на 7-е сут после моделирования ОА свидетельствует о развивающемся артрите.

Рентгенологические исследования. На 25-е и 90-е сутки моделирования ОА кроликам делали рентген коленных суставов. На рентгенологических снимках, сделанных на 25-е сутки после начала эксперимента, обнаружено неравномерное сужение суставной щели в медиальных областях у кроликов группы 1 и 2, что подтверждает начало развития гонартроза. На 117-е сутки, за день до окончания эксперимента, и на 64-е сутки после введения в левые суставы КИК ХТч (группа 1) и БМКГ (группа 2) визуально не было обнаружено существенной разницы между правыми и левыми коленными суставами в обеих группах животных.

Гистологические исследования. Гистологический анализ результатов эксперимента был проведен на 30 препаратах (образцах). В гистологических препаратах хряща интактных кроликов коленного сустава боль-

шой берцовой кости наблюдается характерная для гиалинового хряща гистологическая структура. Отчетливо видны поверхностный, средний (промежуточный) и глубокий слои. В поверхностном слое визуализируется бесклеточная пластина, под которой располагаются вытянутой уплощенной и овальной формы клетки – хондробласты и молодые хондроциты. В среднем слое в эозинофильном тонко-волокнистом матриксе хондроциты часто образуют вертикальные колонки-столбики, являющиеся характерной структурой суставного хряща, наиболее заметной в бедренной кости. В глубоком слое, граничащем с субхондриальной костью, выявляются округлой формы хрящевые клетки.

По принятому дизайну эксперимента в правом коленном суставе, который служил отрицательным контролем, патологический процесс ОА развивался в течение всего времени эксперимента (118 сут). В левый коленный сустав на 53-и сутки после начала моделирования ОА кроликам группы 1 выполняли внутрисуставное введение образцов КИК ХТч, а кроликам группы 2 – образцов БКМГ. На 65-е сутки после введения препаратов животных выводили из эксперимента.

Для животных обеих групп наиболее ярко выраженные изменения структуры хрящевой ткани при моделировании ОА отмечены для суставного хряща большой берцовой кости. В связи с этим в дальнейшем мы анализировали сравнительный регенеративный потенциал БМКГ и КИК ХТч на гистологических препаратах левых коленных суставов большой берцовой кости. У всех животных группы 1 (n = 3) в хряще из правого коленного сустава большой берцовой кости обнаруживаются морфологические признаки измененной структуры. Наблюдаются изъязвления и слущивания поверхностной пластины. Деструктуризация более глубоких слоев выражается в обеднении матрикса клетками, связанном с гибелью (цитолизом) хондроцитов, появлением клеток с пикнотичными ядрами, пустых лакун, исчезновении колончатого строения, хаотичном расположении хрящевых клеток, отеке и очаговом разволокнении хрящевого матрикса.

В гистологических препаратах хряща из левого коленного сустава опытной группы 1 с введенной КИК ХТч на 53-и сутки моделирования ОА (118 сут после начала эксперимента) обнаруживаются признаки частичного восстановления структуры хряща, выражающиеся в формировании хондроцитами колонок-столбиков в среднем слое, некотором оживлении поверхностного слоя (увеличение количества клеток), появлении изогенных групп хрящевых клеток в матриксе. Матрикс хряща в препаратах выглядит более однородным по сравнению с матриксом отрицательного контроля, без признаков разволокнения.

Как и для животных группы 1, для опытной группы 2 (n = 3) в хряще из правого коленного сустава большой берцовой кости обнаруживаются четкие морфологические признаки измененной структуры. Деструктив-

ные изменения затрагивают все слои хрящевой ткани. Наблюдается изъязвление поверхностного слоя, клеточное оскудение, связанное с гибелью хрящевых клеток, и хаотичное расположение сохранившихся хондроцитов в матриксе. В препаратах хряща левого коленного сустава (введение БМКГ) в отличие от группы 1 морфологические различия по сравнению с гистологической картиной отрицательного контроля выражены слабо. Можно отметить лишь начало формирования колонок-столбиков, и несколько более сохранным выглядит поверхностный слой. Полученный результат свидетельствует о наличии существенного регенеративного потенциала биомедицинского клеточного продукта КИК ХТч. Заметим, по данным рентгенологических исследований нельзя было судить ни о динамике развития ОА коленных суставов, ни о процессах репаративной регенерации гиалинового хряща при внутрисуставном введении биомедицинского клеточного продукта КИК ХТч.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты доклинических испытаний позволяют перейти к клиническим исследованиям инновационной медицинской технологии для коррекции и лечения гонартроза.

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

Готье С.В., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Севастьянов В.И.

В последнее время отмечен значительный рост числа тяжелых заболеваний печени с неблагоприятным прогнозом. Это вирусные, алкогольные поражения, первичный билиарный цирроз, гепатоцеллюлярный рак и метаболические нарушения. Необратимость повреждения и прогрессирующее течение этих заболеваний указывают на низкую эффективность традиционных методов их лечения. Радикальным и единственно надежным методом лечения является трансплантация печени (ТП). Однако из-за нехватки донорских органов около 30–50% потенциальных реципиентов с хроническими заболеваниями жизненно важных органов умирают, так и не дождавшись трансплантации. Прогрессирующее увеличение количества больных с печеночной недостаточностью (ПН), высокая инвалидизация, а также смертность среди людей молодого и трудоспособного возраста, ограниченные возможности применения ТП в широкой клинической практике указывают на необходимость поиска новых, более доступных эффективных методов лечения ПН. В этой связи большой интерес представляют современные клеточные биотехнологии, используемые у больных с ПН.

Настоящее исследование посвящено разработке и применению имплантируемых клеточно-инженерных конструкций (КИК) печени для лечения ПН.

Для решения поставленной цели были решены следующие задачи:

- разработана технология выделения и культивирования аутологичных клеток печени (АКП) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСК КМ);
- разработана технология сокультивирования АКП и ММСК КМ;
- разработан способ адгезии клеточных компонентов на пористый твердотельный матрикс на основе бактериального сополимера 3-оксибутирата и 3-оксивалерата (ТМБС) и на биополимерный микроструктурированный коллагенсодержащий гидрогель (БМКГ);

– отработаны протоколы экспериментальной острой и хронической печеночной недостаточности. Модифицирован протокол моделирования хронического гепатита с целью формирования цирроза токсической этиологии у экспериментальных животных (крысы);
– разработан протокол формирования клеточно-инженерных конструкций (КИК) печени;
– разработан протокол имплантации КИК печени в брыжейку тонкой кишки при острой печеночной недостаточности и паренхиму поврежденной печени при хронической печеночной недостаточности;
– проведена биохимическая и морфологическая оценка изменений в печени при моделировании цирроза токсической этиологии для контрольной группы животных.

Целью работы явилось исследование биологической безопасности и функциональной эффективности клеточно-инженерных конструкций (КИК) печени на модели острой и хронической печеночной недостаточности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали два типа биорезорбируемых матриксов: твердотельный пористый матрикс из бактериального сополимера (ТПБС) на основе поли(оксибутиратаоксивалерата) из линейного ряда имплантируемой биополимерной мембраны *Эласто*ПОБ® (рег. уд. № ФСР 2012/13032 от 01.02.2012 г.) и биополимерный микрогетерогенный коллагенсодержащий гидрогелевый матрикс (БМКГ) на основе композиции имплантируемого гетерогенного геля из линейного ряда *Сферо*®ГЕЛЬ (№ ФСР 2012/13033 от 01.02.2012 г.). Оба матрикса производства ЗАО «БИОМИР сервис», Россия.

В качестве доноров для получения клеток печени и лечения острой ПН использовали здоровых беспородных собак (n = 6) в возрасте 1–2 года весом 20–25 кг и крыс-самцов породы Вистар в возрасте 6–8 мес. весом 250–260 г (n = 29). На тех же животных создавали модель острой печеночной недостаточности.

В качестве доноров для получения ассоциатов аллогенных клеток печени и ММСК КМ и лечения хронической ПН использовали крыс-самцов породы Август в возрасте 3–4 мес. весом 150–170 г (n = 40). Для получения клеток крыс оперировали при анестезии Zoletil-100 из расчета 5 мг на 100 г веса.

Были разработаны протоколы подготовки и моделирования острой печеночной недостаточности у собак и крыс, протоколы моделирования хронической печеночной недостаточности у крыс, протоколы выделения клеток печени бесперфузионным методом для получения первичной культуры и протоколы выделения ММСК КМ.

Сокультивирование свежевыделенных аллогенных клеток печени крыс в концентрации 2–4,0 × 10^6 клеток и прекультивированных ММСК КМ в

концентрации 0,4–0,8 × 10^6 клеток проводили в ростовой среде (состав указан выше) в соотношении 5:1 в течение трех суток.

Для анализа полученных результатов использовали лабораторные, биохимические и морфологические (гистологические и иммуногистохимические) методы исследования. Для подтверждения биосовместимости МББС и клеток оценивали степень жизнеспособности клеточной линии $HepG_2$ (аналоги клеток печени) после посева их на эти матриксы методом Mosmann (MTT). Жизнеспособность клеток перед иммобилизацией на матриксах оценивали по окрашиванию трипановым синим.

Различия в результатах биохимического исследования крови в исследуемых группах оценивали по критерию t-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки биологической безопасности и функциональной эффективности созданных КИК печени было выполнено 2 серии опытов.

В первой серии экспериментов анализировали влияние двух типов клеточно-инженерных конструкций, состоящих из ТПБС с АКП или с ассоциатами сокультивированных АКП и ММСК КМ при их имплантации в брыжейку тонкой кишки, на регенерацию печени и восстановление структурно-функционального гомеостаза в организме на модели острой ПН (крысы, n = 29, собаки, n = 6), которую создавали путем резекции 70% ткани печени. Контролем служили животные (собаки, крысы), которым в брыжейку тонкой кишки на 3-и сутки после резекции печени был введен физиологический раствор.

Острая печеночная недостаточность в условиях обширной резекции печени в контрольной группе характеризовалась высоким уровнем летальности животных в первые сутки после операции (погибли 2 собаки из 3 в контроле и 10 из 15 крыс, что составило 66,6%), увеличением показателей активности цитолиза и угнетением белок-синтетической функции печени. Билирубинемия и повышение уровня ГГТП отражали проявления синдрома холестаза.

На модели острой ПН (резекция 65–70% ткани печени) в опытах на собаках (n = 6) и крысах (n = 29) установлено, что КИК печени, содержащие ТПБС с аутологичными клетками печени (АКП) или с ассоциатами АКП с ММСК КМ, при имплантации в брыжейку тонкой кишки снижают летальность животных и способствуют достоверно ускоренной нормализации нарушенных биохимических показателей функции печени (содержание общего белка, лактата, ферментов цитолиза, протромбинового индекса и др. показателей свертывающей системы крови). Гистологическое исследование КИК печени в зоне имплантации через 3 мес. после моделирования острой ПН позволяло выявить жизнеспособные клетки донорской печени, которые, очевидно, и индуцировали ускорение

процесса восстановительной регенерации. Однако эти клетки на ТПБС не были интегрированы между собой, а оставаясь изолированными, они, как известно, не способны на отдаленных сроках активно и длительно функционировать.

Во второй серии экспериментов (крысы, n = 90) исследовали функциональную эффективность двух типов клеточно-инженерных конструкций, состоящих из БМКГ с суспензией АКП или с ассоциатами сокультивированных АКП и ММСК КМ, имплантируемых в паренхиму печени, на модели хронической печеночной недостаточности, которую создавали путем затравки животных гепатотропным ядом CCl_4 в течение 42 сут.

В процессе затравки погибло 19 (21%) животных. После создания модели хронической ПН все животные были разделены на 3 группы в зависимости от способа коррекции ПН. В I группе (контрольной, n = 21), крысам на 7-е сутки после создания модели хронической ПН вводили в печень физиологический раствор в количестве 800 мкл дробно. Во II группе (n = 20), на 7-е сутки после моделирования хронической ПН крысам вводили дробно БМКГ со свежевыделенными АКП в суммарной дозе $2–4 \times 10^6$ клеток в том же объеме в поврежденную печень. В III группе (n = 30) опытов, в том же объеме дробно вводили БМКГ с предварительно приготовленными ассоциатами клеток печени и ММСК КМ в суммарной дозе $2–4 \times 10^6$ клеток печени и $0{,}4–0{,}8 \times 10^6$ ММСК КМ. Оптимизированное соотношение клеток печени и ММСК КМ в составе изготовленных КИК печени (ассоциаты клеток печени и ММСК КМ в БМКГ) составляло 5:1.

После окончания моделирования хронической ПН в организме экспериментальных животных развивались клинические признаки хронической ПН и тяжелые гистологические нарушения в печени. На фоне хронической ПН в контрольной группе (n = 21) погибло 10 животных, что составило 47,6%. При морфологическом исследовании печени контрольной группы на 3-и сутки на фоне изменения балочной структуры печеночных долек отмечается выраженный полиморфизм паренхиматозных клеток, жировая дистрофия гепатоцитов, некроз гепатоцитов. Уже на ранних сроках (7-е сутки) выявляется типичная картина цирротической трансформации печени с прогрессирующим нарушением ее архитектоники к 60-м и 90-м суткам за счет разрастания соединительной ткани и формирования внутридолькового фиброза. В ряде наблюдений в сроках до 1 мес. отличить структуру истинных и ложных долек не представлялось возможным вследствие массивной жировой дистрофии гепатоцитов. Фиброзные изменения в печени контрольных животных сопровождались цитолитическими процессами в паренхиматозных клетках, что нашло отражение в нарушении биохимических показателей сыворотки крови, которые проявлялись повышением активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы.

Было установлено, что ранняя (через 7 сут) имплантация в паренхиму печени КИК печени (БМКГ с ассоциатами АКП и ММСК КМ) создает

условия для интеграции и длительного функционирования включенных в них клеток, обеспечивает ускоренную нормализацию биохимических показателей функции печени. КИК печени такого состава способствует восстановлению структурных показателей повреждения печени. Это выражалось в ускоренном устранении некроза и признаков жировой дистрофии гепатоцитов, достоверном снижении площади соединительной ткани и торможении процессов фиброзирования печени как на ранних сроках наблюдения (3 мес.), так и на сроках 180, 270 сут эксперимента. Напротив, в контроле признаки глубокого повреждения ткани печени на всех сроках сохранялись и прогрессировали (образование ложных долек, внутридольковый фиброз, цирроз). Имплантация в печень КИК печени с АПК в экспериментальной модели хронической ПН способствовала активации восстановительных процессов в печени (нормализация биохимических показателей). Из сравнения гистологических препаратов ткани печени на 90-е сут после начала эксперимента следует, что при использовании КИК на основе БМКГ и АКП (2-я группа) темп фиброзирования был менее выражен, а при имплантации КИК печени на основе БМКГ, АКП и ММСК КМ (3-я группа) имело место полное восстановление структуры ткани печени. Кроме того, в 3-й опытной группе на 90-е сутки в печени реципиента отчетливо выявлялись двуядерные гепатоциты и была более выражена их гликоген-аккумулирующая активность.

Следует особо подчеркнуть, что гистологические исследования КИК печени подтвердили высокую жизнеспособность и функциональную активность клеток, включенных в их состав, как на ранних, так и на отдаленных сроках (90, 180, 270 сут) после их имплантации в печень. Это выражалось в плотной интеграции между собой гепатоцитов, включенных в структуру КИК печени и в появлении на отдаленных сроках новообразованных сосудов и желчных протоков.

Более выраженная восстановительная регенерация поврежденной печени после имплантации в печень клеточно-инженерных конструкций и сохраняющаяся жизнеспособность клеток печени в их составе, позволили нам прийти к заключению, что использование КИК печени (БМКГ + АКП + ММСК КМ) для лечения хронической ПН является более предпочтительным, чем использование КИК печени (БМКГ + АКП).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты экспериментальных исследований клеточно- и тканеинженерной конструкции печени позволяют перейти к созданию и доклиническим исследованиям КИК печени человека на основе биоматрикса БМКГ, ассоциатов аллогенных клеток печени человека и ММСК КМ человека и соответствующей культуральной среды.

ОБЗОР РЕЗУЛЬТАТОВ НИР ПО НАПРАВЛЕНИЮ «ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ»

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ АПРОБАЦИИ ИМПЛАНТИРУЕМЫХ ОСЕВЫХ НАСОСОВ

Иткин Г.П.

Несмотря на прогресс в развитии медикаментозных средств лечения больных с терминальной сердечной недостаточностью (ТСН) в последнее десятилетие, применение этих средств продлевает жизнь таким больным лишь на небольшой период, и ежегодная смертность при этом практически не снижается. Одним из радикальных методов лечения ТСН, вызванной дилатационной и ишемической кардиомиопатией, является пересадка сердца или замена сердца механическим насосом. К настоящему времени возможность трансплантации сердца крайне ограничена из-за недостатка донорских органов.

Кардинальным решением этой проблемы является создание механических устройств, позволяющих длительно частично или полностью заменять функцию пораженного миокарда, и по сути, реально продлить жизнь больных с ТСН. Подобная терапия позволяет таким больным вернуться к относительно нормальной жизнедеятельности в ожидании донорского органа, в перспективе появляется возможность восстановить нормальную работу собственного сердца с последующим отключением механического насоса. Не менее перспективным является использование устройств для длительной механической поддержки кровообращения (ДМПК) на постоянной основе больным, которым по ряду причин отказано в пересадке сердца (destination therapy).

В последние годы в клинической практике значительно чаще используются системы ДМПК с имплантируемыми насосами непульсирующего потока (осевые или центробежные), которые имеют ряд существенных преимуществ перед насосами пульсирующего потока, заключающихся прежде всего в большей надежности, ресурсе, меньших весе и габаритах.

В задачи исследования входило следующее.

1. Разработать методики стендовых исследований медико-технических и медико-биологических характеристик имплантируемых осевых насосов.
2. Разработать методику экспериментальной апробации имплантируемых осевых насосов.

3. Разработать методику клинической апробации имплантируемых осевых насосов.

В России методы ДМПК не нашли должного клинического применения в основном из-за высокой стоимости зарубежного оборудования. В связи с этим была разработана приоритетная программа создания отечественных импортозамещающих высокотехнологичных систем ДМПК, которые могут служить основой для прорывной эффективной технологии лечения больных с ТСН.

Для создания первого отечественного носимого аппарата вспомогательного кровообращения на базе имплантируемого осевого насоса были сформулированы медико-технические требования, на основании которых разработаны и изготовлены макетные образцы аппарата вспомогательного кровообращения (рис. 1).

Имплантируемые компоненты аппарата:

– насос вспомогательного кровообращения с кабелем управления и энергопитания;
– комплект канюль, манжет и сосудистых протезов для подключения насоса к сердечно-сосудистой системе пациента.

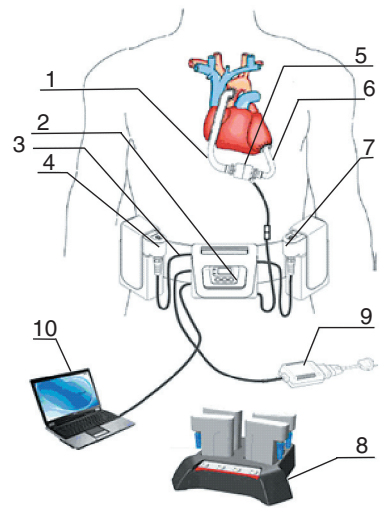


Рис. 1. **Полная структурная схема носимого аппарата вспомогательного кровообращения (1 – выходная канюля и сосудистый протез; 2 – блок управления аппарата; 3 – сумка для носимых компонентов аппарата; 4 – основная аккумуляторная батарея; 5 – осевой насос; 6 – входная канюля; 7 – резервная аккумуляторная батарея; 8 – устройство для зарядки аккумуляторных батарей; 9 – сетевой адаптер; 10 – компьютер с USB-кабелем для соединения с блоком управления)**

Экстракорпоральные носимые компоненты аппарата:
- модуль электронного управления;
- модуль автономного энергопитания.

Вспомогательные компоненты:
- информационно-вычислительный модуль с USB-кабелем связи с модулем электронного управления и установленной программой мониторинга аппарата PUMPAX;
- CD-диск с программой мониторинга аппарата PUMPAX и эксплуатационной документацией в электронной форме (PDF-формат);
- зарядно-контрольное устройство для модулей автономного энергопитания;
- блок питания сетевой;
- комплект специализированного инструмента для имплантации и реимплантации;
- специальная сумка для носимых экстракорпоральных компонентов.

В процессе проектирования и изготовления экспериментальных образцов аппарата разработаны методы и средства для стендовых исследований его технических и медико-биологических характеристик. Предварительные испытания *in vitro* показали полное соответствие характеристик аппарата медико-техническим требованиям. Аппарат обеспечивал расход 4–7 л/мин в диапазоне значений частот вращения 5000–9000 об./мин при перепаде давления 80 мм рт. ст. и потребляемой мощности 5–6 Вт.

Затем *in vitro* на основании предварительно разработанной методики были проведены гемолизные испытания насоса на свежей крови в сравнении с «золотым стандартом», применяемым практически во всех мировых исследовательских центрах центробежным насосом BP-80 (Medtronic, США).

Испытания показали, что уровень гемолиза разработанного осевого насоса значительно ниже (в 1,5 раза) по сравнению с BP-80.

Проведенные стендовые испытания аппарата позволили перейти к следующей фазе исследований – проведению испытаний в хронических экспериментах на телятах.

Для проведения данных исследований была разработана методика экспериментальной апробации аппарата, включая предоперационную и анестезиологическую подготовку животных, технику хирургической имплантации (без искусственного кровообращения), послеоперационное ведение животного. Основной целью экспериментальных исследований явилась оценка возможности длительной работы насоса в организме животного прежде всего с точки зрения тромбообразования в полостях насоса, контактирующих с кровью, и подводящих магистралях.

В процессе экспериментальных исследований на телятах (n = 12) исходные конструкции насоса и подводящих магистралей были модифицированы, что позволило в дальнейших экспериментах (n = 6) практически

исключить образование тромбов в насосе и подводящих магистралях, обеспечить длительную выживаемость телят (50–117 дней) (рис. 2).

Рис. 2. **Теленок с осевым насосом**

На основании последней серии экспериментов с модифицированным насосом было принято решение рассматривать данную серию как предклиническое исследование и предложить апробировать данный аппарат (рис. 3) в клинике для проведения операции двухэтапной трансплантации сердца у больных с дилатационной кардиомиопатией.

а б

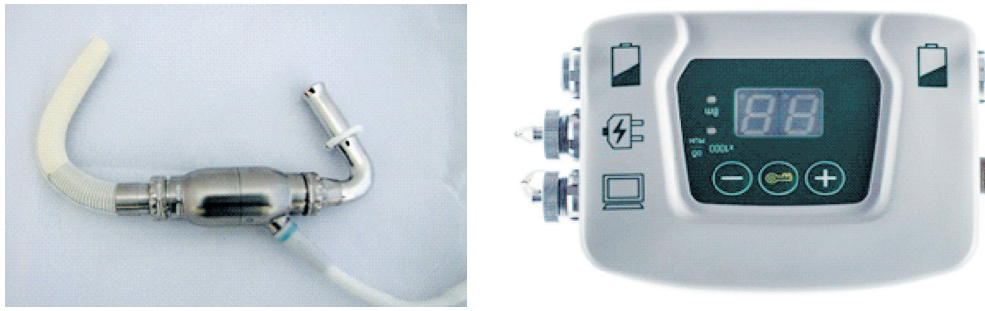


Рис. 3. **Клинический вариант имплантируемого осевого насоса (а) с блоком управления (б)**

В 2012 г. в ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова» была проведена имплантация данного насоса пациенту с дилатационной кардиомиопатией, который через 2 нед. был выписан из клиники. Постоперационный осмотр насоса показал полное отсутствие тромбов в насосе и подводящих

магистралях. Благодаря аппарату пациент получил возможность вести активный образ жизни вне клиники (рис. 4). Через 9 мес. пациенту была успешно проведена эксплантация насоса и последующая трансплантация донорского сердца.

Рис. 4. **Первый пациент с отечественным носимым аппаратом вспомогательного кровообращения**

Созданный аппарат рекомендован для клинического применения (Регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13099 от 17.04.2013) и в настоящее время успешно используется в ряде клиник России для лечения больных с хронической тяжелой сердечной недостаточностью.

Таким образом, в результате работы получены следующие результаты.

Применение аппаратов вспомогательного кровообращения на базе имплантируемых насосов непульсирующего потока является одним из эффективных методов лечения больных с ТСН.

Разработан первый отечественный носимый аппарат вспомогательного кровообращения на базе имплантируемого осевого насоса.

Разработана методика и проведены исследования осевого насоса в эксперименте на животных.

Разработана методика и проведены клинические апробации имплантируемого осевого насоса.

Проведенная НИР позволила выполнить основные этапы медико-технической и медико-биологической апробации первого отечественного аппарата, включая стендовые исследования и серию длительных экспериментов на телятах, позволившие приступить к успешной их клинической апробации.

Вместе с тем, несмотря на значительное снижение стоимости данного аппарата по сравнению с зарубежными аналогами (в 2–3 раза), его цена продолжает оставаться достаточно высокой для практического здравоохранения. Поэтому основным направлением для дальнейших исследований является поиск путей для создания более экономичных, малоинвазивных моделей аппаратов длительного вспомогательного кровообращения, включая разработку новых технологий, позволяющих значительно расширить их применение.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ БИВЕНТРИКУЛЯРНОГО ОБХОДА СЕРДЦА С ПОМОЩЬЮ ОСЕВЫХ НАСОСОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Иткин Г.П., Бурцев В.И., Дробышев А.А., Сысоев А.А., Бучнев А.С.

Результаты клинического применения устройств левожелудочкового обхода (ЛЖО) в последние годы значительно улучшились с применением насосов непульсирующего потока (ННП). Выживаемость пациентов с ННП составляет в среднем 85% в первый год и 78% во второй год после имплантации. Для систем с использованием насосов пульсирующего потока (НПП) аналогичные показатели составляют 60 и 40% соответственно.

Тем не менее оптимистичная картина лечения пациентов с терминальной сердечной недостаточностью омрачается достаточно плохим прогнозом применения ЛЖО у пациентов с сопутствующей правожелудочковой недостаточностью.

Поэтому успешное прогнозирование правожелудочковой недостаточности в дооперационный период во многом могло бы способствовать решению данной проблемы. Причины развития правожелудочковой недостаточности являются многофакторными, и во многих случаях признаки правожелудочковой недостаточности становятся клинически очевидными только после постановки ЛЖО.

В процессе выполнения исследования была разработана концептуальная физиологическая модель взаимодействия правого желудочка и левого желудочка, которая позволила сформулировать стратегию применения бивентрикулярного обхода сердца при терминальной сердечной недостаточности.

Помимо понимания биофизических процессов, развиваемых в миокарде при ЛЖО, с целью оценки взаимодействия камер сердца при ЛЖО, не менее важным является прогнозирование развития правожелудочковой недостаточности на основании ряда патогенных факторов или предикторов правожелудочковой недостаточности. При этом раннее применение правожелудочкового обхода способствует улучшению выживаемости пациентов при ЛЖО. Устройства для бивентрикулярного обхода сердца во многом связаны с целями применения данной технологии при острых и хронических формах сердечной недостаточности и могут классифицироваться в соответствии с целями применения, длительностью применения бивентрикулярного обхода сердца (короткая, среднесрочная и длитель-

ная), методам подключения (экстракорпоральный, паракорпоральный, интракорпоральный, ортотопический, гетеротопический).

В клинической практике наибольшее распространение получил вариант применения бивентрикулярного обхода сердца для последующей трансплантации сердца. Это связано с тем, что такие системы обеспечивают необходимую длительность поддержки системного кровообращения до второго этапа трансплантации сердца.

Одной из проблем, возникающих при бивентрикулярном обходе сердца, является определение оптимальных режимов работы правого и левого насосов. В условиях тотальной сердечной недостаточности, когда системное кровообращение определяется в основном работой двух насосов, при задании расходов двух насосов должен учитываться бронхиальный сброс. Эта же проблема является одной из основных при построении систем управления ИС. И превышение расхода крови правого насоса по сравнению с левым насосом может привести к отеку легких.

Для решения данной проблемы была разработана математическая модель сердечно-сосудистой системы, которая позволила исследовать процессы взаимодействия сердца и двух насосов непульсирующего потока в условиях изменении параметров сердечно-сосудистой системы от нормы к патологии.

На основании данной математической модели были разработаны алгоритмы управления правым насосом и левым насосом в условиях моделирования тотальной сердечной недостаточности, используемые в экспериментах на животных с бивентрикулярным обходом сердца.

Для проведения исследований бивентрикулярного обхода сердца в экспериментах на телятах разработана методика экспериментальной апробации аппарата, включая предоперационную и анестезиологическую подготовку животных, технику хирургической имплантации (без искусственного кровообращения), послеоперационное ведение животного.

В качестве насосов для бивентрикулярного обхода сердца были изготовлены осевые насосы той же конструкции, что и для ЛЖО (рис. 1).

Кроме того, для подключения правого насоса были разработаны блоки электронного управления (рис. 2), позволяющие с меньшей дискретностью изменять скорость роторов правого и левого насосов для выбора оптимальных значений расхода насосов.

Как показали предварительные исследования по примерке макетов правого и левого насосов, габариты насосов не позволяют разместить их в грудной полости теленка без существенного уменьшения дыхательного объема.

В связи с этим была выбрана схема бивентрикулярного обхода сердца, основанная на имплантации насоса для ЛЖО в грудную полость теленка и паракорпоральным подключением насоса для ПЖО. Как показывает мировая клиническая практика, длительность ПЖО не превышает одного месяца, в течение которого правый желудочек восстанавливается, поэтому выбор такой техники подключения правого насоса является оптимальным.

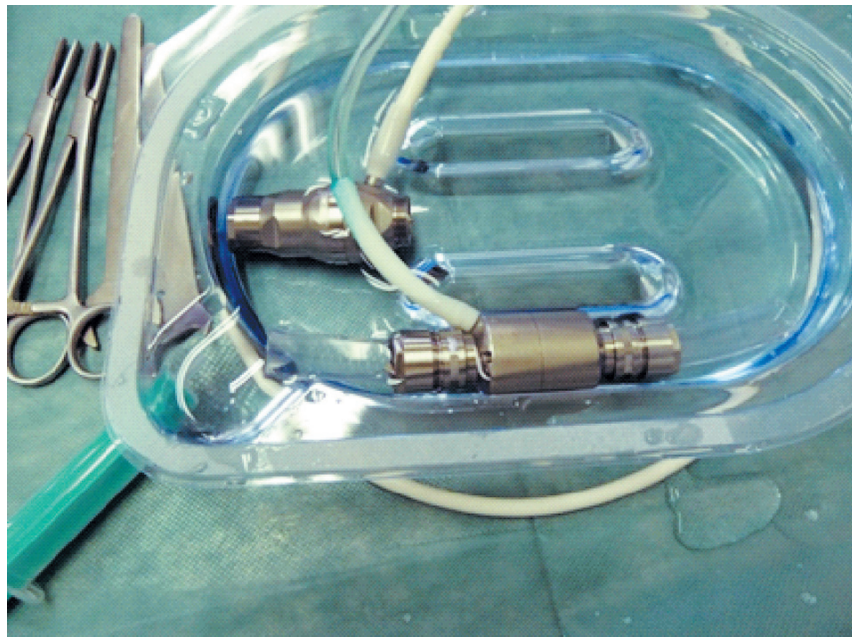


Рис. 1. **Осевой насос с новыми узлами стыковки входной и выходной магистралей (показано на правом насосе)**

Рис. 2. **Блоки электронного управления для левого и правого каналов бивентрикулярного обхода сердца**

На рис. 3 показаны основные этапы имплантации левого и правого насосов.

а б

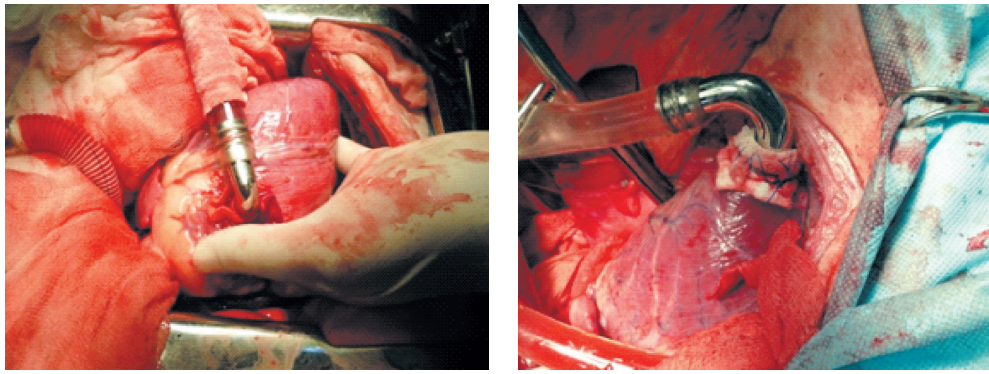


Рис. 3. **Канюляция правого желудочка (а) и левого желудочка (б)**

В процессе экспериментов с учетом особенностей анатомического строения правого желудочка было определено оптимальное место установки входной канюли правого насоса – свободная стенка правого желудочка, дистальнее на 1–2 см полулунного клапана.

В первой серии экспериментов выявились проблемы, связанные с образованием тромбов на входной канюли. Разработка и изготовление оригинальной входной канюли позволили исключить образование на ней тромбов в длительных экспериментах (рис. 4).

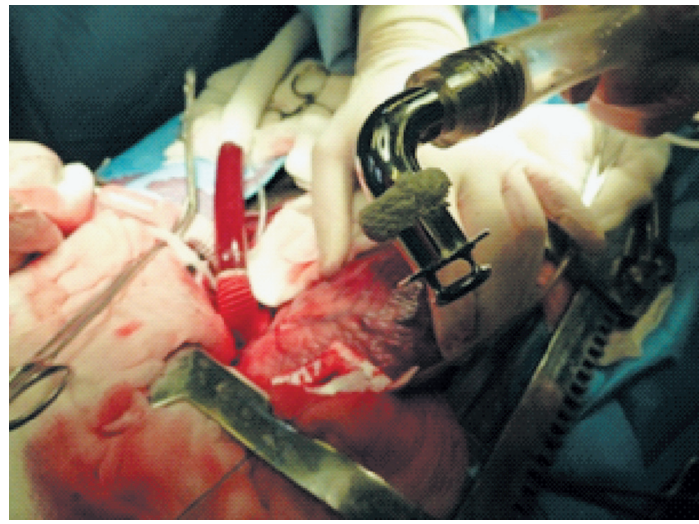


Рис. 4. **Входная канюля ПЖО**

Проведенные исследования осевого насоса на трехмерной математической модели показали, что в условиях низкой гидравлической нагрузки, соответствующей сопротивлению малого круга кровообращения, на входе насоса формируется рециркуляционный вихрь, являющийся возможной причиной образования тромбов в этой зоне (рис. 5).

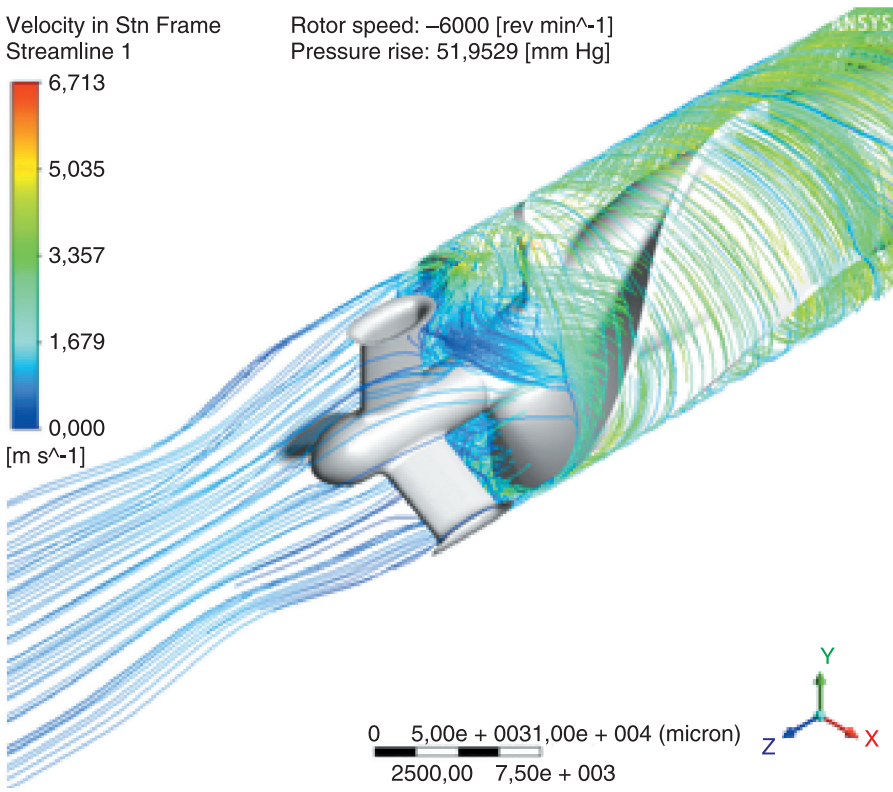


Рис. 5. **Траектория течения жидкости на входе осевого насоса (трехмерная ММ)**

Решением данной проблемы послужила установка на выходе правого насоса дополнительного гидравлического сопротивления (рис. 6). Это позволило оптимизировать поток в правом насосе и значительно уменьшить риски образования в нем тромбов и увеличить длительность выживания телят при бивентрикулярном обходе сердца (15–28 дней), что соответствует общим клиническим стандартам длительности применения данной технологии.

С марта 2012 г. по декабрь 2014 г. было проведено 16 экспериментов на телятах. При этом длительная имплантация бивентрикулярного обхода сердца (от 10 до 28 сут) была выполнена в 4 экспериментах. На рис. 7

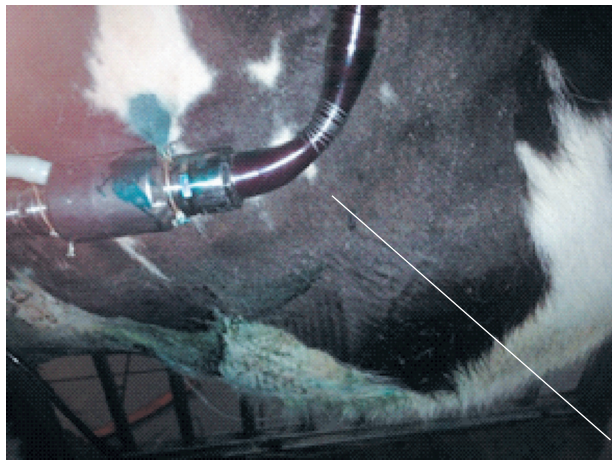


Рис. 6. **Гидросопротивление на выходе правого насоса**

Рис. 7. **Теленок с паракорпоральным подключением правого насоса и имплантированием в грудную полость левого насоса**

показан теленок с паракорпоральным подключением правого насоса и имплантированием в грудную полость левого насоса.

В результате работы были сделаны следующие выводы.

1. Аналитический обзор методов лечения больных тотальной сердечной недостаточностью показал, что эффективным методом лечения данных больных является одновременное применение методики правожелудочкового и левожелудочкового обходов сердца с предоперационной оценкой функции правого желудочка сердца.

2. Концептуальная модель взаимодействия правого и левого желудочков сердца при левожелудочковом обходе позволяет рассмотреть основные физиологические механизмы, участвующие в формировании сердечного выброса при левожелудочковом обходе и правожелудочковой недостаточности.
3. Разработанная математическая модель сердечно-сосудистой системы позволила разработать алгоритмы управления правым и левым насосами в условиях моделирования тотальной сердечной недостаточности.
4. Предложенная техника хирургической постановки бивентрикулярного обхода сердца вместе с разработанными принципами послеоперационного ведения животного позволила провести серию экспериментов по длительной имплантации двух насосов.
5. Введение дополнительно гидравлического сопротивления на выходе правого насоса и оптимизация конструкции входной канюли для правого желудочка позволили уменьшить риски образования тромбов в правом насосе и подтвердили правильность предложенной технологии при проведении длительных экспериментов (от 10 до 28 дней) по бивентрикулярному обходу сердца.

Таким образом, применение бивентрикулярного обхода сердца на базе имплантируемых насосов непульсирующего потока является одним из эффективных методов лечения больных с терминальной сердечной недостаточностью. Ранняя диагностика двусторонней сердечной недостаточности является важным условием для принятия решения о применении технологии бивентрикулярного обхода сердца. Модификация входной канюли для правого желудочка и установка дополнительного сопротивления на выходе правого насоса позволила значительно снизить риски тромбообразования в правом насосе. Тем не менее одним из направлений дальнейших исследований является необходимость модификация правого насоса с целью повышения оборотов ротора насоса при сниженной гидравлической нагрузке, что будет способствовать оптимизации внутринасосной гидродинамики.

Предложенная методика экспериментальной апробации бивентрикулярного обхода сердца может в дальнейшем послужить основой для внедрения в клиническую практику для лечения больных с тотальной сердечной недостаточностью.

РАЗРАБОТКА МЕДИКО-ТЕХНИЧЕСКИХ ТРЕБОВАНИЙ К ОСЕВОМУ НАСОСУ ДЛЯ ДВУХЭТАПНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА У ДЕТЕЙ

Иткин Г.П., Сысоев А.А.

Системы механической поддержки кровообращения (МПК) в настоящее время широко используются для лечения взрослых пациентов с терминальной сердечной недостаточностью (ТСН). За счет этого значительно увеличилась выживаемость таких пациентов. Однако системы для лечения взрослых пациентов не всегда могут использоваться у детей в связи с ограничениями, связанными с размером тела, особенно детей младшего возраста. Поэтому новые технологии и реализация миниатюрных насосов для вспомогательного кровообращения (ВК) у детей являются одним из приоритетных направлений.

В клинической практике применения ВК для взрослых пациентов в последние годы получили наибольшее распространение насосы непульсирующего потока (ННП). Сложность создания подобных систем для маленьких пациентов объясняется прежде всего ограничениями, связанными с размещением этих насосов в грудной или абдоминальной области. С другой стороны, как показали исследования, восстановление миокарда у детей на фоне ВК происходит значительно быстрее, особенно у детей с наиболее часто встречающейся формой сердечной недостаточности, развивающейся вследствие инфекционного миокардита. Поэтому требования к длительности работы аппаратов ВК для детей могут быть несколько снижены по сравнению с требованиями к аппаратам для взрослых пациентов.

В ходе исследования решались следующие задачи.

1. Провести аналитический обзор современных систем механической поддержки кровообращения у детей младшего возраста (от 1 года до 12 лет), на основании которого определить медико-технические требования к детскому осевому насосу.
2. Разработать трехмерную математическую модель осевого насоса для конструкции детского осевого насоса, на основе которой и изготовить пластиковый макет детского осевого насоса с внешним приводом и исследовать его расходно-напорные характеристики на гидродинамическом стенде.

3. Разработать и изготовить экспериментальные образцы детского осевого насоса с блоком электронного управления.
4. Провести испытания на гидродинамическом стенде расходно-напорных и энергетических характеристик экспериментального образца детского осевого насоса и разработать на основании проведенных исследований медико-технические требования к осевому насосу для двухэтапной трансплантации сердца у детей.

Технология создания имплантируемого детского насоса состоит из следующих этапов:

– построение трехмерной математической модели детского насоса с оптимизацией течения крови в полостях насоса на базе исходных медико-технических требований и критериев качества насоса;
– изготовление на основе данной модели основных пластиковых узлов насоса и проведение предварительных испытаний собранного насоса с внешним двигателем на гидродинамическом стенде с определением расходно-напорных и энергетических характеристик;
– разработка конструкторской документации для изготовления экспериментального образца и электронного блока управления;
– изготовление основных узлов насоса (из титана ВТ-6), статора и магнитов встроенного электродвигателя и сборка насоса;
– изготовление и отладка блока электронного управления;
– проведение испытаний насоса с блоком электронного управления на гидродинамическом стенде для оценки РНХ и энергетических характеристик насоса.

Для построении исходной трехмерной математической модели насоса разработана типовая схема проектируемого детского насоса (рис. 1).

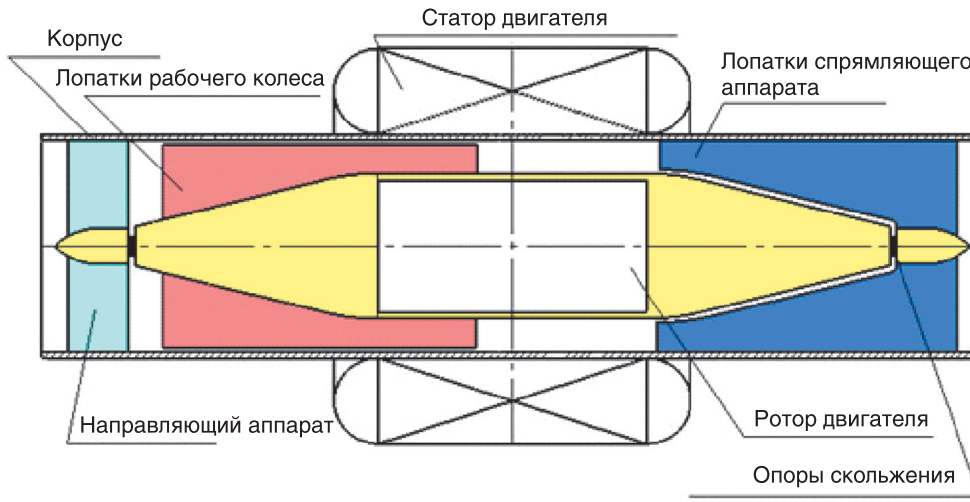


Рис. 1. **Типовая схема имплантируемого осевого насоса**

Насос имеет прямой цилиндрический корпус, внутренний проточный диаметр которого определен средним диаметром аорты у детей и составляет 9 мм. Внутри корпуса расположен ротор, являющийся одновременно и рабочим колесом насоса. Наружный диаметр втулки ротора (5 мм) определен габаритами магнита роторной части двигателя (4 мм) и толщиной цилиндрической гильзы самого импеллера (0,2–0,5 мм). Ротор закреплен в опорах скольжения, которые расположены в неподвижном спрямителе потока и направителе потока, находящихся соответственно на входе и выходе ротора.

Оптимальная геометрия основных элементов насоса получена методом трехмерного математического моделирования с учетом критериев качества работы насоса (минимум гемолиза, тромбоза, надежности, допустимой массы и габаритов).

На основании рассчитанных параметров рабочего колеса, определенных входных углов на периферии и у основания втулки спроектирована параметрическая трехмерная математическая модель (рис. 2).

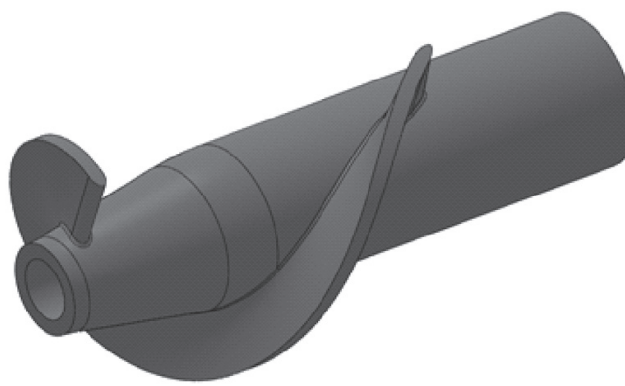


Рис. 2. **Трехмерная математическая модель рабочего колеса**

Проектирование геометрии образующей лопатки спрямителя потока построено на определении окружных и осевых составляющих скорости в плоскостях на выходе синтезированного РК для определения угла потока течения. Построенный по определенным углам потока течения спрямитель потока показан на рис. 3.

Модель полного насосного агрегата состоит из направителя потока, рабочего колеса и спрямителя потока. Направитель потока представляет собой втулку-обтекатель, в которой расположены элементы опоры скольжения, и две расположенные под углом к продольной оси насоса лопатки пилона, предназначенные для задания направлении потока течения на входе в рабочем колесе. Трехмерная модель направителя потока показана на рис. 4.

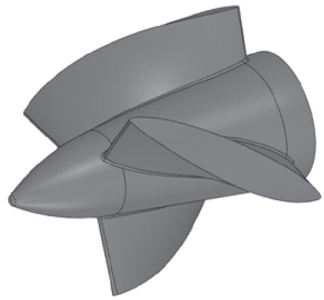


Рис. 3. **Трехмерная математическая модель спрямителя потока**

Рис. 4. **Трехмерная модель направителя потока**

На основе полученных трехмерных деталей насоса построена математическая модель течения жидкости в межлопаточных каналах. На основании данной модели течения сгенерирован осевой насос, который был загружен в препроцессор вместе с сетками рабочего колеса и спрямителя потока для определения начальных и граничных условий расчета (рис. 5).

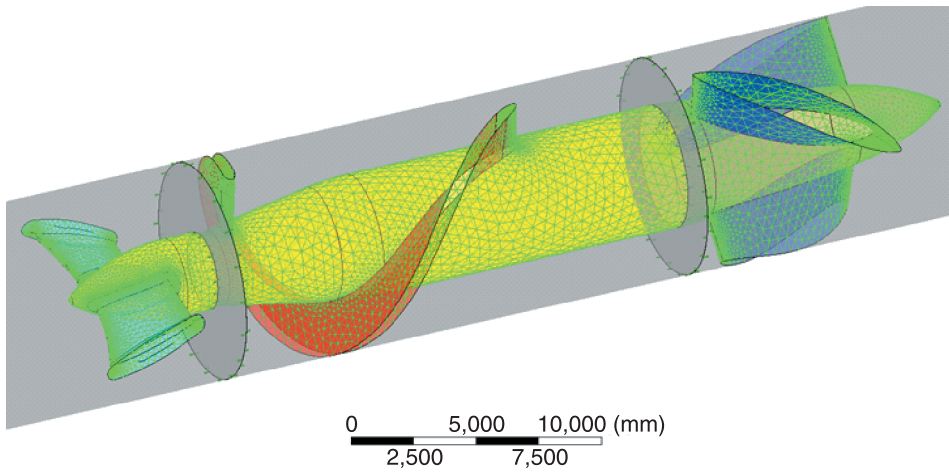


Рис. 5. **Детали детского осевого насоса в препроцессоре**

Распределение полного давления и линии потоков детского осевого насоса показаны на рис. 6 и 7.

На основе моделей синтезированного рабочего колеса, спрямителя потока и направителя потока аппаратов были спроектированы все детали конструкции прототипа насоса. Компьютерные модели сборки прототипа показаны на рис. 8.

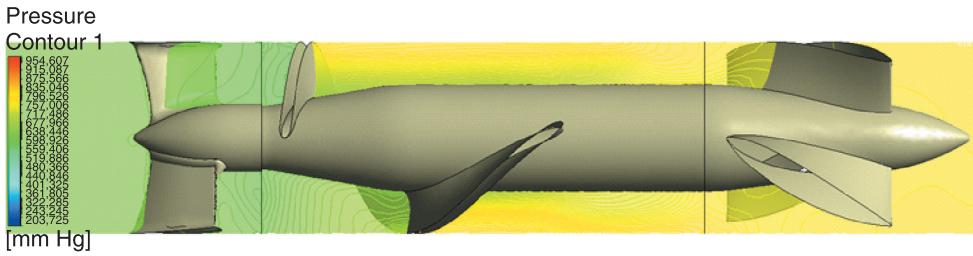


Рис. 6. **Распределение полного давления в ОН**

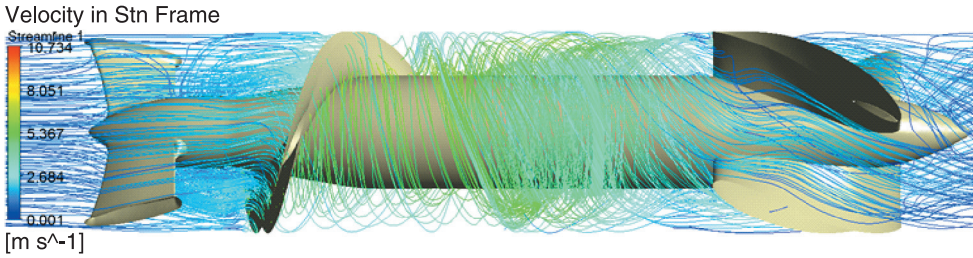


Рис. 7. **Линии потоков в ОН**

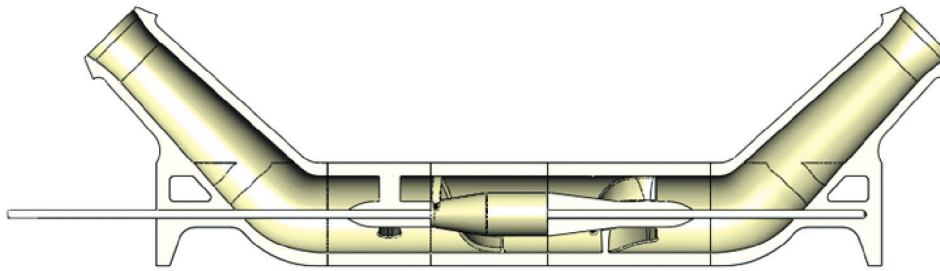


Рис. 8. **Модель сборки прототипа детского осевого насоса в сечении**

По компьютерным моделям основных конструктивных элементов прототипа были изготовлены все детали. Изготовление деталей произведено одним из методов быстрого прототипирования (rapid prototyping).

Собранный пластиковый прототип насоса показан на рис. 9.

Проведены испытания собранного прототипа насоса с внешним приводом на гидродинамическом стенде. При этом снимались расходно-напорные характеристики насоса на различных скоростях вращения ротора: от 13 000 до 17 000 об./мин. Результаты проведенного исследования отображены на сводной диаграмме (рис. 10).

С учетом всех разработанных медико-технических требований и на основе параметров пластиковой модели насоса была разработана конс-

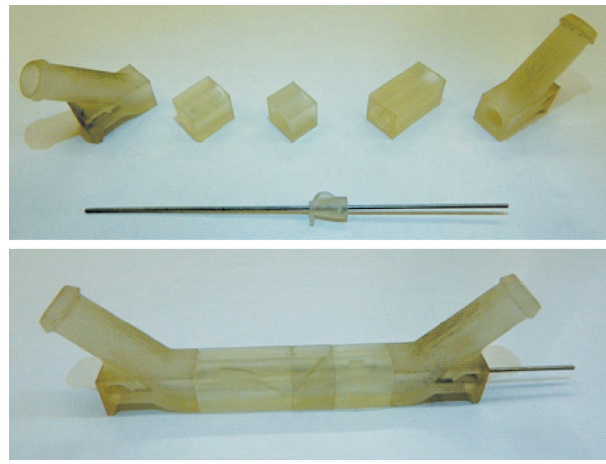


Рис. 9. **Пластиковый прототип насоса**

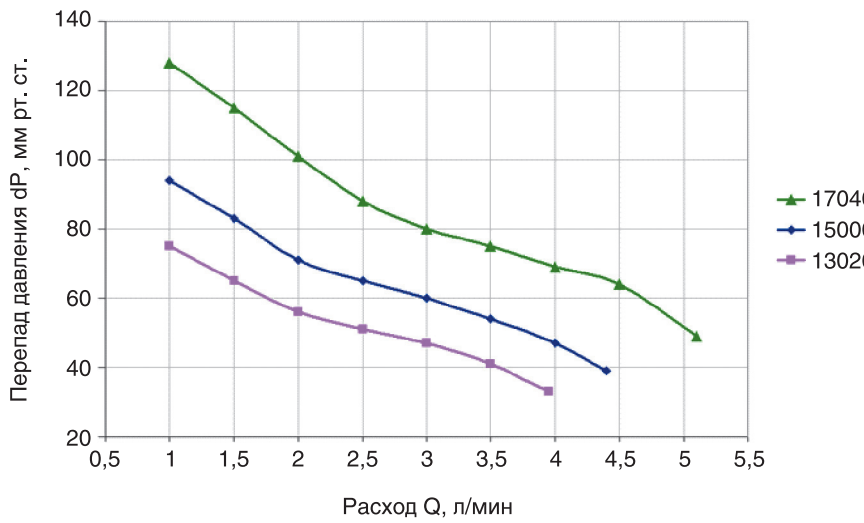


Рис. 10. **Сводная диаграмма рабочих характеристик пластикового осевого насоса**

трукторская документация (КД) экспериментального образца детского насоса. Общий чертеж сборки макетного образца детского ОН со сферическими опорами скольжения показан на рис. 11.

В соответствии с разработанной КД и определенным технологическим процессом были изготовлены все основные детали насосной части и двигателя конструкции имплантируемого роторного детского насоса.

Собранный экспериментальный образец детского насоса с блоком электронного управления показан на рис. 12.

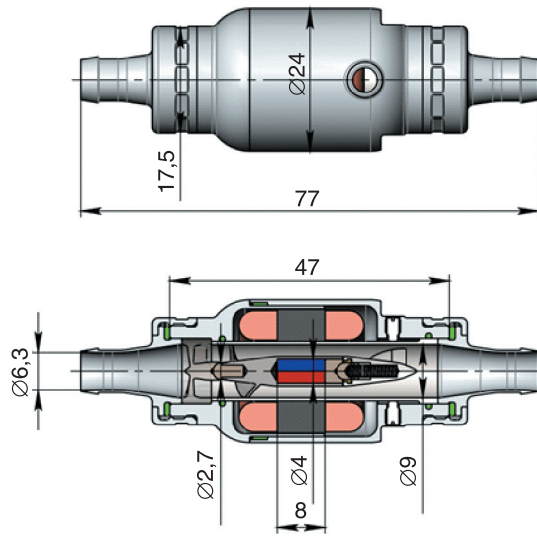


Рис. 11. **Чертеж сборки макетного образца детского ОН**

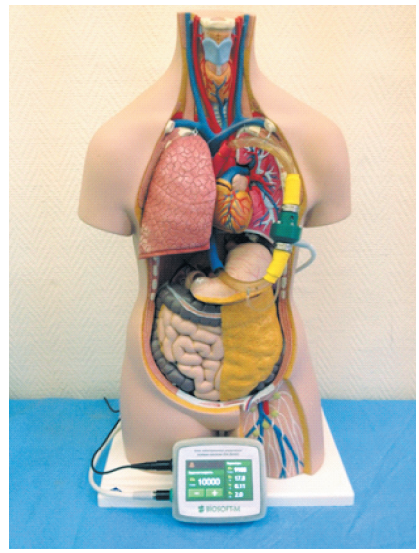


Рис. 12. **Экспериментальный образец детского ОН с блоком электронного управления**

Результаты работы позволили сделать следующие выводы.

1. Использование методов математического моделирования позволило разработать математическую трехмерную модель детского осевого насоса и использовать ее для изготовления основных узлов макета насоса методом быстрого прототипирования.

2. Расходно-напорные характеристики детского насоса с внешним приводом соответствуют первоначально заданным исходным параметрам (расход 1–3 л/мин при перепаде давления 80 мм рт. ст. обеспечивается на скорости оборота ротора насоса 15 000–17 000 об./мин).
3. Разработанная эскизная документация позволила изготовить макетные образцы насоса со встроенным бесконтактным двигателем постоянного тока.
4. Расходно-напорные характеристики экспериментальных образцов детского насоса соответствуют расчетным данным.
5. На основании проведенных исследований сформулированы МТТ, которые могут быть использованы в дальнейшем при проектировании опытных образцов детского насоса для двухэтапной трансплантации сердца у детей.

Созданный экспериментальный образец детского насоса может служить основой для разработки опытного образца насоса для дальнейшего внедрения в клиническую практику.

V. КНИГИ И МОНОГРАФИИ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ В 2014 г. ПО ПРОБЛЕМЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

КНИГИ И МОНОГРАФИИ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ В 2014 Г. ПО ПРОБЛЕМЕ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ

Трансплантация сердца. Руководство для врачей / Под ред. С.В. Готье, В.Н. Попцова, А.О. Шевченко. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. – 136 с.

ISBN 978-5-94789-650-3

Рецензенты

Порханов Владимир Алексеевич – член-корр. РАН, доктор медицинских наук, профессор.

Чернявский Александр Михайлович – доктор медицинских наук, профессор.

В книге представлены опыт, накопленный в Федеральном научном центре трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова по сохранению и пролонгации жизни пациента в период ожидания донорского органа, а также клинические рекомендации по трансплантации сердца, принятые Российским трансплантологическим обществом.

Рекомендовано ученым советом факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России в качестве учебного пособия для дополнительного профессионального образования терапевтов, кардиологов, врачей других специальностей.

Содержание книги

Предисловие
Контингент больных для трансплантации сердца. Поддержание жизни потенциального реципиента в период ожидания
(*С.В. Готье, В.Н. Попцов, Е.А. Спирина*)
Отбор пациентов для трансплантации сердца
Очередность и неотложность выполнения трансплантации сердца
Поддержание жизни потенциального реципиента в процессе ожидания донорского органа
Методы механической поддержки кровообращения перед трансплантацией сердца
Внедрение в клиническую практику периферической вено-артериальной ЭКМО у пациентов, нуждающихся в неотложной трансплантации сердца
Разработка и клиническое применение чрескожного трансфеморального дренирования левого предсердия с целью объемной разгрузки левого желудочка при проведении ЭКМО
Длительная механическая поддержка кровообращения перед трансплантацией сердца
Трансплантация сердца. Клинические рекомендации
(*С.В. Готье, В.М. Захаревич, А.Я. Кормер, Б.Л. Миронков, В.Н. Попцов, Р.Ш. Саитгареев, Т.А. Халилулин, А.О. Шевченко, Д.В. Шумаков*)
Классификация рекомендаций и степени доказанности
Классы рекомендаций
Степени доказанности
Основные показания к трансплантации сердца
Определение конечной стадии поражения сердца
Рекомендации для диагностической катетеризации правых отделов сердца
Показания к трансплантации сердца.
Отбор доноров для трансплантации сердца
Критерии отбора оптимальных доноров для трансплантации сердца
Использование донорских сердец с нарушениями сокращения и проводимости
Рекомендации по оптимальному времени ишемии трансплантата
Периоперационный период при трансплантации сердца
Операция ортотопической трансплантации сердца
Предсердная методика ортотопической пересадки сердца
Кава-кавальная методика ортотопической пересадки сердца
Комбинированная методика ортотопической пересадки сердца

Диагностические критерии периоперационной дисфункции сердечного трансплантата
Медикаментозная терапия в перитрансплантационном периоде
Рекомендации по проведению инотропной терапии в перитрансплантационном периоде
Механическая поддержка кровообращения в периоперационном периоде трансплантации сердца
Особенности механической поддержки кровообращения при бивентрикулярной дисфункции сердечного трансплантата
Рекомендации по применению механической поддержки кровообращения в периоперационном периоде трансплантации сердца
Рекомендации по использованию экстракорпоральной мембранной оксигенации
Особенности механической поддержки кровообращения при правожелудочковом типе дисфункции сердечного трансплантата
Ранний послеоперационный период при трансплантации сердца
Рекомендации по послеоперационному мониторингу реципиентов пересаженного сердца
Рекомендации по лечению нарушений ритма в периоперационном периоде
Рекомендации для лечения гипергликемии в периоперационном периоде
Рекомендации по лечению больных с недостаточностью трикуспидального клапана сердечного трансплантата
Иммуносупрессивная терапия
Протокол иммуносупрессивной терапии, применяемый в ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им ак. В.И. Шумакова
Тактика ведения больных после трансплантации сердца
Факторы, определяющие прогноз после трансплантации сердца
Регулярные клинические обследования и консультации больных после трансплантации сердца
Отторжение трансплантированного сердца
Острое клеточное отторжение
Классификация острого клеточного отторжения
Клинические признаки отторжения трансплантата
Рекомендации по лечению острого клеточного отторжения
Бессимптомное острое клеточное отторжение
Рекомендации по лечению бессимптомного острого клеточного отторжения

Возвратное/резистентное клеточное отторжение
Рекомендации по лечению возвратного или резистентного отторжения
Сверхострое отторжение трансплантата
Тактика лечения сверхострого отторжения трансплантата
Рекомендации по лечению сверхострого отторжения
Острое гуморальное отторжение
Лечение острого гуморального отторжения
Бессимптомное гуморальное отторжение
Смешанное отторжение
Рекомендации по лечению гуморального отторжения трансплантата
Позднее острое отторжение аллотрансплантата
Лечение позднего острого отторжения аллотрансплантата
Рекомендации по лечению позднего острого отторжения трансплантата сердца
Васкулопатия сердечного трансплантата
Диагностика васкулопатии сердечного трансплантата
Классификация васкулопатии трансплантата (ISHLT)
Факторы риска и профилактика васкулопатии сердечного трансплантата
Статины у больных после трансплантации сердца
Особенности иммуносупрессивной терапии и риск развития васкулопатии трансплантата
Тактика лечения васкулопатии трансплантата
Рекомендации по диагностике и лечению болезни коронарных артерий пересаженного сердца
Повторная трансплантация сердца (ретрансплантация)
Рекомендации по повторной трансплантации сердца
Профилактика инфекционного эндокардита после трансплантации сердца
Рекомендации по профилактике инфекционного эндокардита после трансплантации сердца
Мониторирование безопасности иммуносупрессивной терапии
Рекомендации по выявлению побочных действий иммуносупрессивной терапии
Значимые лекарственные взаимодействия иммуносупрессивных лекарственных средств
Минимизация иммуносупрессивной терапии
Снижение дозы кортикостероидов
Уменьшение дозы ингибиторов кальциневрина
Отмена ингибиторов кальциневрина
Назначение ингибиторов кальциневрина в монотерапии

Мониторирование терапии ингибиторами кальциневрина
Рекомендации по минимизации иммуносупрессивной терапии
Новообразования
Факторы риска развития новообразований после трансплантации сердца
Скрининговые обследования и лечение
Рекомендации по профилактике, диагностике и лечению новообразований у больных после трансплантации сердца
Функция почек. Профилактика и лечение нефропатии
Распространенность, факторы риска и тактика лечения нефропатии у больных после трансплантации сердца
Рекомендации по профилактике, диагностике и лечению почечной недостаточности у больных после трансплантации сердца
Артериальная гипертония после трансплантации сердца
Распространенность и факторы риска АГ после трансплантации сердца
Рекомендации по лечению артериальной гипертонии после трансплантации сердца
Неврологические нарушения после трансплантации сердца
Распространенность и факторы риска неврологических нарушений после трансплантации сердца
Рекомендации по лечению неврологических осложнений после трансплантации сердца
Сахарный диабет после трансплантации сердца
Распространенность и факторы риска развития сахарного диабета после трансплантации сердца
Рекомендации по диагностике, профилактике и лечению сахарного диабета у больных после трансплантации сердца
Остеопороз
Факторы риска развития остеопороза после трансплантации сердца
Рекомендации по профилактике остеопороза при трансплантации сердца
Репродуктивное здоровье после трансплантации сердца
Рекомендации по беременности у пациенток после трансплантации сердца
Рекомендации по контрацепции у пациентов после трансплантации сердца
Рекомендации по профилактике и лечению болезней, передающихся половым путем
Рекомендации по лечению эректильной дисфункции у больных после трансплантации сердца

Физические тренировки и реабилитация после трансплантации сердца
Рекомендации по применению программ лечебной физкультуры и физической реабилитации у больных после трансплантации сердца
Проведение хирургических вмешательств у больных с трансплантированным сердцем
Рекомендации по проведению хирургических вмешательств у больных с трансплантированным сердцем
Социальная реабилитация больных после трансплантации сердца
Рекомендации по социальной реабилитации больных после трансплантации сердца
Вождение автомобиля и управление транспортными средствами
Рекомендации по вождению автомобиля и управлению транспортными средствами для больных после трансплантации сердца
Психологическая адаптация. Лечение депрессий
Рекомендации по профилактике и лечению депрессивных состояний у больных после трансплантации сердца
Мультидисциплинарный подход в наблюдении за больными после трансплантации сердца
Принципы мультидисциплинарного подхода в ведении больных после трансплантации сердца
Список сокращений
Литература

Готье С.В., Шевченко А.О., Попцов В.Н. Пациент с трансплантированным сердцем. Руководство для врачей по ведению пациентов, перенесших трансплантацию сердца. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. – 144 с.

ISBN 978-5-94789-648-0

Рецензенты

Караськов Александр Михайлович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор.

Шляхто Евгений Владимирович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор.

В руководстве подробно описаны особенности пациентов с трансплантированным сердцем и основные принципы ведения больных в различные сроки после трансплантации. Предназначено для врачей широкого профиля, наблюдающих пациентов, перенесших трансплантацию сердца.

Рекомендовано ученым советом факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России в качестве учебного пособия для дополнительного профессионального образования терапевтов, кардиологов, врачей других специальностей.

Содержание книги

Предисловие
Список сокращений
Введение
Особенности пациентов с трансплантированным сердцем
Кому выполняется трансплантация сердца
Патофизиологические особенности сердечного трансплантата
Факторы, определяющие прогноз после трансплантации сердца
Регулярные клинические обследования и консультации пациентов после трансплантации сердца
Отторжение трансплантированного сердца
Острое клеточное отторжение
Классификация острого клеточного отторжения

Клинические признаки отторжения трансплантата
Бессимптомное острое клеточное отторжение
Возвратное/резистентное клеточное отторжение
Сверхострое отторжение трансплантата
Тактика лечения сверхострого отторжения трансплантата
Гуморальное отторжение
Острое гуморальное отторжение
Бессимптомное гуморальное отторжение
Смешанное отторжение
Позднее отторжение аллотрансплантата
Лечение позднего отторжения аллотрансплантата
Васкулопатия сердечного трансплантата
Диагностика васкулопатии сердечного трансплантата
Факторы риска и профилактика васкулопатии сердечного трансплантата
Особенности иммуносупрессивной терапии и риск развития васкулопатии сердечного трансплантата
Дополнительные лекарственные средства для профилактики васкулопатии трансплантата и нежелательных сердечно-сосудистых событий
Статины
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и блокаторы рецепторов к ангиотензину
Антитромбоцитарная терапия
Тактика лечения васкулопатии трансплантата
Повторная трансплантация сердца (ретрансплантация)
Иммуносупрессивная терапия
Лекарственные средства, используемые при проведении иммуносупрессивной терапии у больных после трансплантации сердца в послеоперационном периоде
Ингибиторы кальциневрина
Лекарственные средства антиметаболического действия
Кортикостероиды
Инигибиторы сигнала пролиферации
Основные принципы назначения иммуносупрессивных лекарственных средств у реципиентов сердца
Мониторирование безопасности иммуносупрессивной терапии
Значимые лекарственные взаимодействия иммуносупрессивных лекарственных средств
Минимизация иммуносупрессивной терапии
Снижение дозы кортикостероидов
Уменьшение дозы ингибиторов кальциневрина
Назначение ингибиторов кальциневрина в монотерапии

Мониторирование эффективности терапии ингибиторами кальциневрина

Осложнения иммуносупрессивной терапии

Инфекционные осложнения

Профилактика инфекционных осложнений

Пневмоцистная инфекция (Pneumocystis jiroveci (carinii))

Грибковые инфекции

Вирусные инфекции

Профилактика инфекционного эндокардита после трансплантации сердца

Новообразования

Факторы риска развития новообразований после трансплантации сердца

Скрининговые обследования и лечение новообразований

Патологические состояния, обусловленные сочетанием различных факторов

Нефропатия у реципиентов сердца

Артериальная гипертония после трансплантации сердца

Неврологические нарушения

Сахарный диабет

Нарушения липидного обмена

Подагра

Остеопороз

Психосоциальная и физическая реабилитация реципиентов сердца

Физические тренировки и реабилитация после трансплантации сердца

Психологическая адаптация. Лечение депрессий

Контроль добросовестности выполнения рекомендаций

Репродуктивное здоровье и сексуальная жизнь после трансплантации сердца

Беременность и лактация

Контрацепция

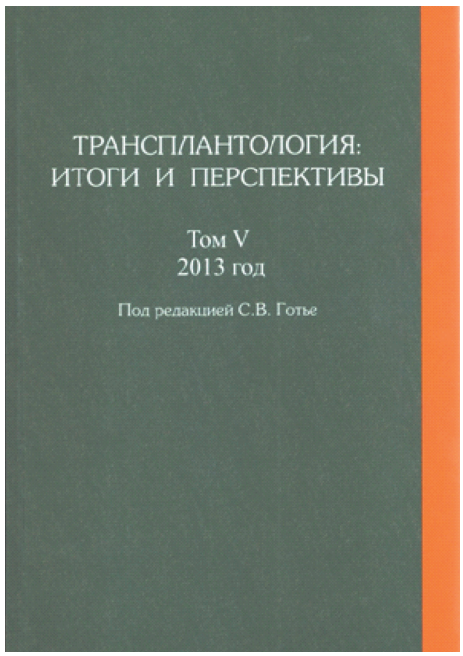
Профилактика заболеваний, передающихся половым путем

Эректильная дисфункция

Вождение автомобиля

Литература

Трансплантология: итоги и перспективы. Том V. 2013 год / Под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. – 352 с.: ил.
ISBN 978-5-94789-649-7



V том ежегодного издания содержит документы и аналитические материалы, отражающие клинические и научные аспекты проблем трансплантологии и разработки искусственных органов в Российской Федерации по итогам 2013 г. Анализ трансплантационной активности в Российской Федерации за 2013 г. представлен по данным VI сообщения регистра Российского трансплантологического общества.

Информация о результатах научных исследований, включенная в настоящую книгу, основана на материалах научных отчетов, авторефератов диссертаций, защищенных в 2013 г. по специальности «трансплантология и искусственные органы», библиографии публикаций российских ученых в российских и зарубежных изданиях в 2013 г.

Содержание книги

Введение
I Российский национальный конгресс «Трансплантация и донорство органов»
Шевченко О.П.
Органное донорство и трансплантация в Российской Федерации в 2013 году (VI сообщение регистра Российского трансплантологического общества)
(*Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Хомяков С.М.*)
Результаты научных исследований
Трансплантация органов
Биохимические, биофизические, иммунные механизмы поражения обратного ремоделирования миокарда при застойной сердечной недостаточности и после трансплантации сердца
(*Миронков Б.Л., Остроумов Е.Н., Попцов В.Н., Честухин В.В., Шумаков Д.В.*)

Молекулярные механизмы развития и прогрессирования болезни коронарных артерий сердца и сердечного трансплантата (*Шевченко О.П., Миронков Б.Л., Шевченко А.О., Кормер А.Я., Олефиренко Г.А., Халилулин Т.А., Стаханова Е.А.*)

Изучение биологических аспектов взаимодействия трансплантата и реципиента и разработка путей пролонгирования функции трансплантата в организме реципиента
(*Готье С.В., Цирульникова О.М., Томилина Н.А., Курабекова Р.М., Кунцевич Н.В., Столяревич Е.С., Шевченко О.П.*)

Разработка и усовершенствование технологий трансплантации органов и тканей в условиях тканевой несовместимости и от АВ0-несовместимых доноров
(*Готье С.В., Мойсюк Я.Г., Сушков А.И., Шевченко О.П., Цирульникова И.Е., Цирульникова О.М., Зайденов В.А.*)

Регенеративная медицина и клеточные технологии

Системный микро- и наноструктурный анализ полимерных материалов для заместительной и регенеративной медицины
(*Агапов И.И., Ефимов А.Е.*)

Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций поджелудочной железы из культур островковых клеток поджелудочной железы и биодеградируемых носителей с целью стимуляции регенерации β-клеток у больных сахарным диабетом
(*Скалецкий Н.Н., Кирсанова Л.А., Севастьянов В.И.*)

Разработка и экспериментальное исследование тканеинженерных конструкций печени из ассоциатов клеток печени и биодеградируемых носителей
(*Готье С.В., Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А.*)

Искусственные органы

Разработка методики экспериментальной и клинической апробации имплантируемых осевых насосов
(*Иткин Г.П., Волкова Е.А.*)

Разработка методики бивентрикулярного обхода сердца с помощью осевых насосов в эксперименте
(*Иткин Г.П., Бурцев В.И.*)

Разработка медико-технических требований к осевому насосу для двухэтапной трансплантации сердца у детей (*Иткин Г.П., Сысоев А.А.*)

Наиболее значимые результаты НИР за 2013 г. по комплексной проблеме медицины «Трансплантология и искусственные органы» (по материалам отчета в научный совет по трансплантологии и искусственным органам)

Книги и монографии, опубликованные в 2013 г. по проблеме трансплантологии искусственных органов

Диссертации по специальности «трансплантология и искусственные органы», защищенные в 2013 г.

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности «трансплантология и искусственные органы», защищенной в 2013 г.

Программный гемодиализ: модификация режимов для коррекции сердечно-сосудистых нарушений (*Строков А.Г.*)

Авторефераты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по специальности «трансплантология и искусственные органы», защищенных в 2013 г.

Реваскуляризация трансплантата левого латерального сектора печени у детей (*Ахаладзе Д.Г.*)

Коррекция пороков сердца в условиях искусственного кровообращения у больных на заместительной почечной терапии (*Белокуров Д.А.*)

Разработка и экспериментальное исследование клеточно-инженерной конструкции хрящевой ткани (*Пономарева А.С.*)

Коронарная ангиопластика у реципиентов почечного трансплантата (*Рядовой И.Г.*)

Указатель работ отечественных авторов в области трансплантологии и искусственных органов, опубликованных в зарубежных изданиях в 2013 г.

VI. ДИССЕРТАЦИИ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ», ЗАЩИЩЕНЫ В 2014 г.

ДИССЕРТАЦИИ ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «ТРАНСПЛАНТОЛОГИЯ И ИСКУССТВЕННЫЕ ОРГАНЫ» ЗАЩИЩЕНЫ В 2014 г. В ДИССЕРТАЦИОННОМ СОВЕТЕ Д 208.055.01

при ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, приказ председателя ВАК № 1925-1333 от 09.09.09

– медицинские науки,

– биологические науки.

Полномочия совета подтверждены приказом Министерства образования и науки РФ от 11 апреля 2012 г. № 105/нк

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Рахматуллин Рамиль Рафаилевич

БИОПЛАСТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ ГИДРОКОЛЛОИДА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ И РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

Москва – 2014

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»,

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

Научный консультант:
доктор биологических наук,
профессор **Севастьянов Виктор Иванович**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В современной реконструктивной и восстановительной хирургии получили развитие и широко применяются методы органоспецифического восстановления замещаемых структур с помощью биосовместимых материалов. Создание новых биосовместимых материалов сопряжено с трудоемкими теоретическими и экспериментально-клиническими исследованиями, но их возрастающая потребность в практической медицине оправдывает затраты и служит достаточным обоснованием актуальности проблемы.

Одной из ключевых проблем является создание материалов с оптимальными биоинженерными свойствами [Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И., 2006; Василец В.Н. и др., 2010]. Достижения в области молекулярной и клеточной биологии демонстрируют принципиальную возможность восстановления поврежденных тканей и органов с помощью материалов, способных имитировать свойства замещаемых биологических структур [Шумаков В.И., Севастьянов В.И., 2003; Campoccia D. et al., 1998; Adams E., 2003; Hewood E., 2004].

Для производства биопластических материалов используются биодеградируемые полимеры: альгинаты, коллаген, желатин, хитозан, фиброины шелка, полиэфиры бактериального происхождения – полиоксибутираты и их сополимеры [Сургученко В.А., Севастьянов В.И., Кирпичников М.П., 2011]. Отличительная особенность биоматериалов – их способность к биодеградации и включение в метаболизм клеток продуктов распада, которыми являются моносахара, молочная и гликолевые кислоты и др.

При создании современных конструкций для реконструктивной и восстановительной хирургии разработчики используют гиалуроновую кислоту (ГК) – гликозаминогликан, естественный компонент внеклеточного матрикса тканей позвоночных животных [Хабаров В.Н., 2012; Brown T., Alcorn D., Frazer J., 1999; Brun P., Cortivo R., Radice M., Abatangelo G., 1999; Aziz Z., Abu S., Chong N., 2012]. Благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, таким как высокая гидрофильность и мультиполярность, молекула ГК способствует формированию оптимального внеклеточного матрикса для восстановления пораженных органов, предотвращая явления фиброза и формирование рубцовых тканей [Зиновьев Е.В. и др., 2014; Burg K., 2000; Heitland A., 2004; Kelechi T.J., 2012].

В большинстве своем наноструктурированные материалы на основе ГК получают с помощью технологии химической модификации и биосинтеза дополнительных протеиновых компонентов [Сяобин Жао и др., 2010; Kuzuya M., Satake S., Miura H., 2006; Sanginario V. et al., 2006]. Высокая эффективность микро- и наноструктурированных биоматериалов на основе ГК подтверждена клиническими показателями, например, при лечении дефектов покровных тканей, вызванных повреждениями (механические травмы, ожоги) и заболеваниями сосудов (трофические язвы нижних конечностей) [Савельев В.С., 2001; Зиновьев Е.В., 2013; 2014].

К одному из перспективных направлений использования биопластических материалов многими исследователями относится разработка 2D- и 3D-матриксов для тканеинженерных конструкций и биоискусственных органов [Севастьянов В.И., 2009; Edmonds M., 2009; DiDomenico L., Emch K.J., Landsman A.R. et al., 2011; Cheng A., Saint-Cyr M., 2012; Dumville J.C., Deshpande S., 2013]. Благодаря ряду специфических физико-химических свойств (гидрофильность, мультиполярность, имму-

нологическая толерантность) молекула ГК способна формировать оптимальный внеклеточный матрикс [Shih H.N. et al., 2004; Snyder S., 2012; Хабаров В.Н., 2012]. Матрицы на основе ГК получают с помощью технологий химической модификации и биосинтеза дополнительных протеиновых компонентов [Жао С. и др., 2010].

В ряде работ показано, что применение гиалуроновой кислоты (естественного протеогликана аморфного межклеточного вещества тканей) в хирургической практике открывает большие перспективы для разработки новых методов органоспецифической регенерации [Адельшин А.И. и др., 2013; Зиновьев Е.В. и др., 2013, 2014; Snyder D., 2012]. Однако для реализации данного направления требуется проведение исследований в плане нехимического структурирования макромолекул гиалуроновой кислоты с целью получения пластических материалов с оптимальной матрицей и функциональными свойствами. Кроме того, важно учитывать совместимость будущих материалов с клеточными технологиями, позволяющих значительно расширить их клинические показания и заложить основы для создания новых тканеинженерных конструкций и биоискусственных органов.

Степень разработанности темы исследования

Известны гидрогели и пластические материалы, изготовленные с применением гиалуроновой кислоты и химически модифицированных материалов по типу «нетканого волокна» (технология этерификации HYAFF). Гидрогели ГК и «нетканые волокна» HYAFF в силу специфики технологии изготовления неизбежно содержат химические примеси, токсичные для клеток, что является сдерживающим фактором для их широкого клинического применения и биоинжиниринга (Snyder S., 2012; Хабаров В.Н., 2012; Рева Г.И., 2013). Вопрос о разработке новых материалов на основе ГК с использованием технологий фотохимического микро- и наноструктурирования до сих пор остается открытым, что и послужило основанием для выполнения настоящей работы.

Цель исследования: разработка и внедрение в восстановительную и реконструктивную клиническую практику микро- и наноструктурированного биопластического материала.

Задачи исследования

1. Разработать технологию получения биопластического материала из гидрогеля гиалуроновой кислоты методом фотохимической сшивки макромолекул.
2. Исследовать физико-химические и биологические свойства полученного биопластического материала. Оценить степень биологической совместимости материала в условиях *in vitro* и *in vivo*.

3. Изготовить биоинженерные конструкции на основе модифицированной гиалуроновой кислоты и определить их функциональную эффективность на экспериментальных моделях в условиях *in vivo*.
4. Разработать медико-технические требования к созданию биопластического материала для восстановления дефектов тканей.
5. Оценить функциональную эффективность биопластического материала в клинической практике.

Научная новизна работы

Разработана оригинальная рецептура смеси гидроколлоида гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса для эффективной фотохимической сшивки макромолекул, сопровождающейся микро- и наноструктурированием получаемого биопластического материала.

Создан биопластический материал, имеющий ячеисто-сетчатую структуру, которая обеспечивает эффективную адгезию, миграцию и пролиферацию прививаемых клеточных элементов.

Предложена новая методика биопластики для восстановления дефектов покровных тканей с применением созданного пластического материала.

Экспериментально-клиническими исследованиями продемонстрирована высокая эффективность использования созданного биоматериала в хирургической практике для восстановления дефектов покровных тканей, в том числе у пациентов с рефрактерностью к традиционной терапии. Доказана стабилизация достигнутого эффекта в течение ближайшего и отдаленного срока наблюдения.

Разработаны показания и противопоказания к применению новых изделий медицинского назначения – биопластических материалов «G-DERM» и «Гиаматрикс».

Теоретическая и практическая значимость работы

С использованием оригинальной технологии фотохимического микро- и наноструктурирования гидроколлоида гиалуроновой кислоты разработаны новые изделия медицинского назначения – биопластический материал «Гиаматрикс» и гистоэквивалент – биопластический материал «G-DERM».

Разработан клинический алгоритм применения биопластического материала у больных с дефектами тканей различной этиологии в ото- и общехирургической практике. Получено регистрационное удостоверение Росздравнадзора на биопластический материал «Гиаматрикс» (№ ФСР 2011/10313 от 18.03.2011 г.). Данный материал широко применяется в ведущих медицинских учреждениях и центрах по показаниям пласти-

ки дефектов покровных тканей. Выдано официальное разрешение Росздравнадзора на проведение клинических испытаний гистоэквивалент-биопластического материала «G-DERM» № 83/2014 от 17.02.2014 г. Организовано опытно-промышленное производство данных пластических материалов.

Клиническое использование материалов по специальным показаниям, например при миринготопластике, позволяет в короткие сроки восстановить целостность барабанной перепонки у больных с посттравматическими перфорациями, хроническими мезотимпанитами, эпитимпанитами и болезнью оперированного уха.

Предлагаемый метод с использованием нового биоматериала делает возможным улучшение качества лечения и сокращение периода медико-социальной и профессиональной реабилитации пациентов.

Методология и методы исследования

Методологическая часть исследования основана на аргументированном применении алгоритмов научного поиска. В ходе проведения экспериментальных исследований изучены биофизические свойства гидроколлоида гиалуроновой кислоты, разработана технология его структурирования с получением пластических материалов с заданными биоинженерными параметрами, оценена их биосовместимость.

Доклинические исследования выполнены в соответствии с международными требованиями оценки биологического действия медицинских изделий и включали в себя методы *in vitro* и *in vivo*.

Клинический раздел выполнен в дизайне сравнительного рандомизированного открытого исследования (клинические, инструментальные, морфологические, микробиологические, иммунологические, статистические методы).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Технологическая платформа создания биопластического материала с заданными биоинженерными свойствами, основанная на фотоиндуцировании химических связей между макромолекулами в гидроколлоиде гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса.
2. Экспериментальные подходы к фотохимическому структурированию макромолекул гиалуроновой кислоты для получения имплантируемых материалов с высокими биосовместимыми и функциональными свойствами.
3. Экспериментальные модели пролиферативных процессов в выделенных культурах фибробластов и кератиноцитов человека *in vitro*.
4. Способ применения биопластического материала для клинической технологии биопластики дефектов покровных тканей.

5. Метод хирургического лечения хронических средних отитов, посттравматических перфораций барабанной перепонки, венозно-трофических язв, восстановления дефектов покровных тканей, в том числе у пациентов с рефрактерностью традиционной терапии, разработанный на основе результатов доклинических и клинических исследований биоматериала).

Степень достоверности и апробация материалов исследования

Достоверность исследований определяется репрезентативным объемом групп экспериментальных и клинических наблюдений, использованием современных методов объективной оценки и верификации полученных научных результатов, а также применением современных методов статистической обработки данных. Выводы, положения и рекомендации аргументированы системным анализом достаточного объема выборок разноплановых исследований.

Апробация и публикация материалов исследования. По теме диссертации опубликована 1 монография, 46 статей в периодических изданиях, в том числе 39 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ для опубликования основных результатов диссертаций на соискание доктора наук, получено 7 патентов РФ на изобретение, поданы 2 международные заявки на изобретение.

Результаты исследований доложены и обсуждены на II Всероссийском инновационном конвенте (г. Санкт-Петербург, 2009 г.), I конвенте ПФО (г. Нижний Новгород, 2009 г.), межрегиональном форуме-выставке «Чувашия-био» (г. Саранск, 2009 г.), Всероссийской научно-практической конференции оториноларингологов с международным участием «Достижения и перспективы развития микрохирургии уха и верхних дыхательных путей» (г. Оренбург, 2011 г.), V Всероссийской научно-практической конференции (г. Оренбург, 2011 г.), XVI Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине» (г. Казань, 2011 г.), I Всероссийском инновационном форуме «РусИнноМед-2011» (г. Пермь, 2011 г.), I Международной научно-практической конференции (г. Екатеринбург, 2011 г.), международном конгрессе «Image Nano» (Бильбао, Испания, 2011 г.), международном семинаре «Передовые российские технологии» (Мадрид, Испания, 2011 г.), III и IV международных форумах «Роснанотех» (г. Москва, 2010 г., 2011 г.), международном форуме «Инновационные технологии лечения ожогов и других травм в медицине катастроф» (Нагория, Израиль, 2013 г.), международном форуме «Открытые инновации» (Москва, 2013 г.), I национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2013 г.), форуме «U-NOVUS» (Томск, 2014 г.).

Реализация результатов исследования

Разработанный биопластический материал внедрен в клиническую практику многих лечебно-профилактических учреждений РФ, среди которых Институт хирургии РАМН им. А.В. Вишневского, клиника военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Дальневосточный ожоговый центр. Теоретические и практические результаты исследований используются в учебном процессе на кафедрах Оренбургского государственного университета и Оренбургской государственной медицинской академии.

Личный вклад автора заключается в проведении аналитического обзора литературы (100%), составлении программы исследования (95%), разработке карты обработки медицинских документов (95%), сборе и анализе данных (95%), статистической обработке результатов (95%). Соискатель разработал план и провел серии биофизических работ и экспериментов с участием лабораторных животных (60%), участвовал в обследовании большинства пациентов, включенных в исследование. Личный вклад в исследование превышает 85%.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 311 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, содержащих обзор литературных данных по излагаемой проблеме, описания экспериментальных и клинических исследований, методов обследования, результатов собственных исследований, обсуждений полученных результатов, выводов, а также практических рекомендаций и библиографического указателя, состоящего из 160 отечественных и 272 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 30 таблицами, 139 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В основу диссертации легли теоретически обоснованные, исследованные экспериментально методами *in vitro* и *in vivo* и подтвержденные практически на анализе 120 клинических наблюдений материалы.

Разработка биопластического материала

В практическую часть диссертации была включена разработка оригинального метода получения биопластического материала методом фотохимической сшивки макромолекул в гидрогеле гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса. Разработка положена в основу промышленной технологии производства биопластического материала.

Экспериментальные исследования

В экспериментальную часть работы были включены биофизические исследования с анализом фотохимических свойств как самого гидрогеля «гиалуроновая кислота – пептидный комплекс», так и полученного на его основе биополимера, а также доклинические исследования биопластического материала методами *in vitro* и *in vivo* с созданием экспериментальных моделей.

Материалы экспериментального исследования

В исследованиях был применен биоматериал, используемый при создании медицинского изделия для пластики дефектов покровных тканей.

Материал получен методом фотохимического микро- и наноструктурирования гидроколлоида гиалуроновой кислоты и коллагена, имеет вид эластичной пластинки белесовато-золотистого цвета размером 10 × 15 см, толщиной 500 мкм (рис. 1).

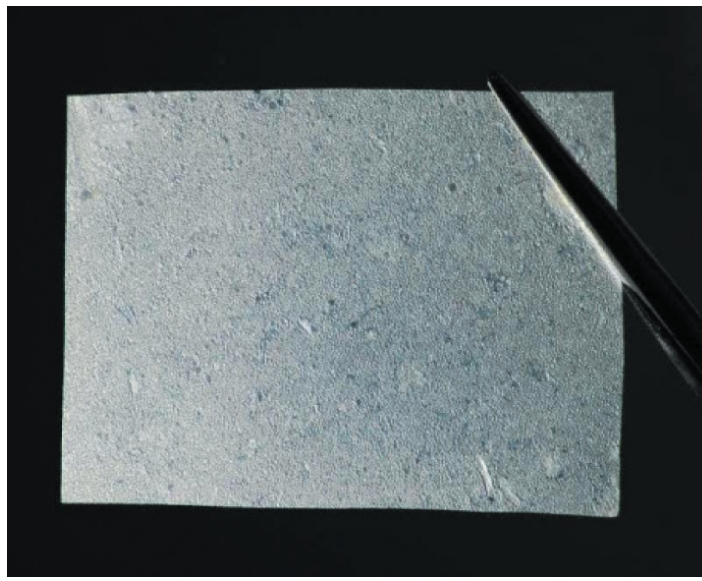


Рис. 1. **Биопластический материал**

Модификация базовой технологии получения биопластического материала позволила разработать и исследовать 3D (трехмерные) пластические материалы, представленные в виде губки (10 × 15см, толщина 10 мм) и трубки (диаметр – 25 мм, толщина стенок 10 мм). Различные морфотипы трехмерных пластических материалов представлены на рис. 2, 3.

Рис. 2. **Объемный (3D) материал**

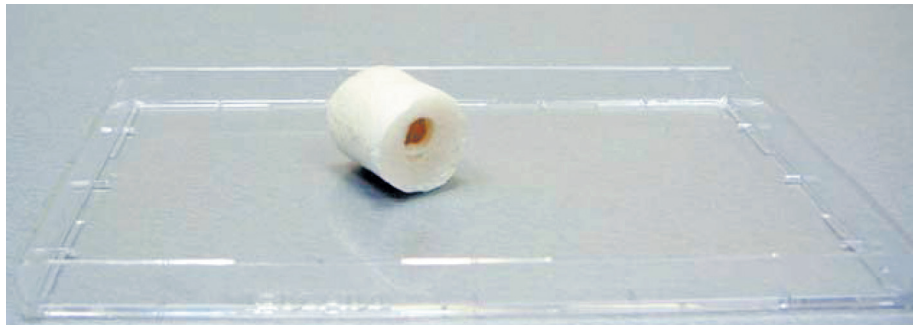


Рис. 3. **Объемный материал в виде трубки**

Методы исследования биофизических свойств гидроколлоида гиалуроновой кислоты

Исследования биофизических свойств материала осуществляли в центре коллективного пользования «Институт микро- и нанотехнологий Оренбургского государственного университета».

Электронные спектры поглощения полимерной пластинки измеряли на спектрофотометре Solar CM-2203. Инфракрасные спектры поглощения и нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) измеряли на фурье-спектрофотометре Varian 3100 FT-IR.

Микроструктуру полимера исследовали с помощью сканирующего атомно-силового микроскопа (АСМ) СММ-2000 (ЗАО «КПД», Зеленоград). Для получения АСМ-изображений в воздушной среде использовали треугольные кантилеверы жесткостью 0,01 н/м с пирамидальной иглой радиусом кривизны $r \sim 15–25$ нм.

Кислородопроницаемость биоматериала исследована методом лазерного флеш-фотолиза и оценена по тушению кислородом (O_2) замедленной флуоресценции (ЗФ) молекулярных зондов, внедренных в биоматериал.

Оценка биологического действия

Исследования и испытания в соответствии с требованиями международных и межгосударственных стандартов серии ГОСТ ISO 10993-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий» проведены в испытательной лаборатории доклинических исследований «БИОМИР» Института медико-биологических исследований и технологий (АНО «ИМБИИТ»).

Исследование биопластического материала методами *in vitro*

Изучение биоматериала на выделенной культуре мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток

Экспериментальная работа была выполнена на базе научно-производственной лаборатории клеточных технологий Оренбургского государственного университета.

Исследования проводили на выделенной культуре мультипотентных мезенхимальных стромальных стволовых клеток. Срок культивирования 26 сут. Ежедневно проводили видеодокументирование в каждой группе и серии экспериментов. Оценку площади клеток проводили на аппаратно-программном комплексе Axio Observer A1 фирмы Carl Zeiss, с программным обеспечением Axio Vision. Кластерный анализ культуры осуществляли на программном комплексе Image J и Image Pro Plus, деление клеток на группы проводили исходя из плотности пикселей на объект.

Подсчет клеток осуществляли в 1, 3 и 4-й группе всех серий экспериментов, на аппаратном комплексе Vi-Cell XR фирмы Becman Coulter, перед посевом и по окончании культивирования. Рассчитано число удвоений культуры за период культивирования и определена скорость удвоения культуры (удвоений/час).

Иммунофенотипирование проводили на проточном цитофлюориметре FACS Canto фирмы Becton Dickinson непосредственно перед посевом и после снятия клеток на 19-й и 26-й день культивирования. Исследовали следующие антигены: CD90, 44, 45, HLA-ABC, HLA-DR, 73, 34, 105, 14.

Оценка миграционной способности проводилась по видеозаписи роста клеток 3-суточными циклами всего периода культивирования.

Изучение объемных (3D) биопластических материалов осуществлялось на выделенных культурах постнатальных фибробластов кожи человека, мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека и эпидермальных кератиноцитов.

Работа выполнена в лаборатории клеточных технологий Оренбургского государственного университета. Объектом исследования стал 3D пластический материал в виде губки размерами 10×15 см и толщиной 10 мм.

Постнатальные фибробласты кожи человека (ФЧ) были выделены из биоптата кожи взрослого человека с помощью механической дезагрегации и ферментативной обработки 0,1% коллагеназой I типа (Worthington, США) с последующей отмывкой и центрифугированием. Клетки культивировали в среде DMEM («Панэко», Россия), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Hyclone, США), в присутствии антибиотиков пенициллин/стрептомицин. Культивирование производили в пластиковой посуде фирмы Corning (США), в стандартных культуральных условиях (5% CO_2; температура +37 °С). Пересев клеточных культур проводили по стандартной методике с использованием растворов Версена («Панэко», Россия) и Трипсин-ЭДТА («Панэко», Россия).

С целью прижизненной визуализации клеток на непрозрачном объекте (губка) на 3-м пассаже после выделения культуру фибробластов трансфицировали геном зеленого флуоресцирующего белка EGFP под CMV-промотором при помощи лентовирусной конструкции (ООО «Евроген», Россия). В дальнейшем клетки на губке можно было наблюдать с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа Olympus IX51 (Olympus, Япония).

Мезенхимные стромальные клетки жировой ткани человека (МСКЖТ) были выделены из биоптата жировой ткани взрослого человека с помощью механической дезагрегации и ферментативной обработки 0,1% коллагеназой I типа (Worthington, США) с последующей отмывкой и центрифугированием. Клетки культивировали в среде Alpha-MEM («Панэко», Россия), содержащей 10% ЭТС (Hyclone, США), добавку ITS (Gibco, США), в присутствии антибиотиков пенициллин/стрептомицин. Культивирование производили в пластиковой посуде фирмы Corning (США) в стандартных культуральных условиях (5% CO_2; температура +37 °С). Пересев клеточных культур проводили по стандартной методике с использованием растворов Версена («Панэко», Россия) и Трипсин-ЭДТА («Панэко», Россия).

С целью прижизненной визуализации клеток на непрозрачном объекте (губка) на 1-м пассаже после выделения культуру клеток трансфицировали геном красного флуоресцирующего белка TagRFP под CMV-промотором при помощи лентивирусной конструкции (ООО «Евроген», Россия). В дальнейшем клетки на губке можно было наблюдать с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа Olympus IX51.

Эпидермальные кератиноциты человека (ЭКЦ) были выделены из биоптата кожи взрослого человека с помощью механической дезагрегации и ферментативной обработки диспазой (протеаза, тип 9) (Sigma, США) и Трипсин-ЭДТА («Панэко», Россия) с последующей отмывкой и центрифугированием. Клетки культивировали в среде DMEM/F12 («Панэко», Россия), содержащей 10% ЭТС (Hyclone, США), добавку ITS (Gibco, США), эпидермальный фактор роста 10 нг/мл (Peprotech, США) в присутствии антибиотиков пенициллин/стрептомицин. Культивирование производили

в пластиковой посуде фирмы Corning (США) в стандартных культуральных условиях (5% CO_2; температура +37 °С). Пересев клеточных культур проводили по стандартной методике с использованием растворов Версена («Панэко», Россия) и Трипсин-ЭДТА («Панэко», Россия). С целью прижизненной визуализации клеток на 1-м пассаже после выделения культуру фибробластов трансфицировали геном красного флуоресцирующего белка TagRFP под CMV-промотором. В дальнейшем клетки на губке наблюдали с помощью инвертированного флуоресцентного микроскопа.

В исследованиях *in vitro* выявлена способность 3D-матрикса G-DERM поддерживать миграцию клеток внутрь губки по поверхности, на которую изначально помещены клетки при посеве. Для этого проведен гистологический анализ материала после клеточного культивирования в полной ростовой среде в течение 21 сут для ФЧ, МСКЖТ и ЭКЦ. Матрицы фиксировали в 4% формальдегиде, отмывали в PBS, заливали в парафиновые блоки и затем на микротоме получали препараты гистологических срезов губок (толщина 5 мкм), используя стандартные методики. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином и фотографировали в проходящем свете, а также окрашивали DAPI и фотографировали, используя флуоресцентный микроскоп.

Исследования эффективности биоматериала в экспериментальных условиях in vivo

Эффективность биоматериала *in vivo* оценивали в сравнительном анализе нового изделия относительно стандартных методик ранозаживления покровных тканей. Исследования биопластического материала проводили на экспериментальной модели эксцизионной раны.

Эксперимент был проведен на 30 половозрелых крысах линии Wistar весом 0,2–0,3 кг. Материалом для исследований послужили крысы с экспериментальной раной размером 2 × 2 см на коже в поясничной области. Животные были разделены на 2 группы: в опытной группе (20 особей) выполнялась биопластика разработанным материалом, а в контрольной (10 особей) – рану обрабатывали перевязками с физиологическим раствором.

Оценку эффективности осуществляли методами прижизненной биомикроскопии и морфологическими исследованиями места имплантации. Морфологические исследования с использованием гистологических и гистохимических методов проводили в течение 7, 14 и 30 дней, а также через 6 и 12 мес. после операции по восстановлению покровных тканей.

Клинические исследования

Клинические исследования выполняли по нозологиям. Исследования клинической эффективности биопластического материала при лечении

трофических язв были выполнены на клинической базе госпитальной хирургии и урологии Оренбургской государственной медицинской академии, хирургического отделения железнодорожной больницы ст. Оренбург и поликлиники № 1 городской клинической больницы № 3 г. Оренбурга. Общее количество пациентов с трофическими язвами составило 30 человек основной группы с неэффективной традиционной терапией: 21 (70%) пациент с варикозной болезнью нижних конечностей (ВБНК) и 9 (30%) пациентов с посттромбофлебической болезнью (ПТФБ).

Для всех больных при поступлении применен стандартный набор инструментально-клинических исследований и дана оценка статуса венозной системы нижних конечностей.

Состояние трофических язв оценивалось по морфологическим критериям, результатам бактериологических исследований (качественный и количественный состав микрофлоры, антибиотикочувствительность) и данных цитологического изучения тканевых отпечатков. Площадь язвенных дефектов измеряли в динамике методом фотопланиметрии с учетом краевой и очаговой эпителизации.

Исследования клинической эффективности биопластического материала у пациентов с хроническим туботимпанальным средним отитом, хроническим гнойным эпитимпано-антральным средним отитом, болезнью оперированного уха, острым посттравматическим разрывом барабанной перепонки были проведены на клинической базе кафедры оториноларингологии факультета последипломного образования Оренбургской государственной медицинской академии.

В основной группе пациентов (90 человек) для мирингопластики был использован биопластический материал, данная группа была сформирована среди пациентов с неэффективной традиционной терапией, в связи с чем контрольная группа в исследовании не выделялась.

При поступлении у пациентов оценивали остроту слуха (исследования живой речью, камертональными пробами и аудиометрией). Наличие дефектов барабанной перепонки выявляли методами отоскопии, отомикроскопии.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

Объектом для разработки нового биопластического материала был определен гидроколлоид гиалуроновой кислоты с пептидным комплексом.

В отличие от большинства других полисахаридов гиалуроновая кислота (ГК) содержит в боковых цепях аминокетогруппы NH – (C = O) – CH_3. Эти группы термически устойчивы, однако могут быть активны фотохимически. В ультрафиолетовых спектрах ГК наблюдается полоса поглощения в области 230 нм. Карбонильные группы поглощают в ультрафиолетовой области спектра и, переходя в возбужденные состояния,

претерпевают химические превращения с достаточно высокой эффективностью. В алифатических кетонах, содержащих карбонильные группы, известны четыре типа первичных реакций: α-расщепление, отщепление атома водорода, образование комплексов с переносом заряда и элиминирование α-заместителей. При фотохимическом α-расщеплении (реакция Норриша I) образуются активные свободные радикалы, способные образовать новые химические связи в местах пространственного сближения цепей гиалуроновой кислоты. Именно эти сшивки образуют устойчивый трехмерный нанокаркас гидрогеля ГК. Радикалы, не участвующие в образовании сшивок, быстро исчезают в результате обратной рекомбинации и не влияют на химические, биологические и другие свойства материала.

Фотохимические превращения в гидроколлоиде были положены в основу технологии создания матрикса пластического материала за счет формирования фотоиндуцированных межмолекулярных связей. Технология включала оптимизацию состава исходного гидрогеля ГК и условий его фотохимической модификации. Наиболее эффективно сшивка фотохимически активных групп происходит при облучении гидрогеля светом с длиной волны, соответствующей максимуму полосы поглощения исходной смеси.

УФ-спектроскопию гидрогеля ГК проводили на спектрофотометре Solar CM-2203, с диапазоном измерений 190–1100 нм, шириной выделяемого спектрального интервала 5 нм по стандартной методике. На рис. 4 приведен электронный спектр поглощения биополимерной пленки, полученной поливом гидрогеля на основе гиалуроновой кислоты на кварцевую подложку. Для создания биопленки производилось облучение раствора УФ-излучением в течение 6 ч, при этом видимых изменений в электронном спектре поглощения по сравнению с необлученной пленкой

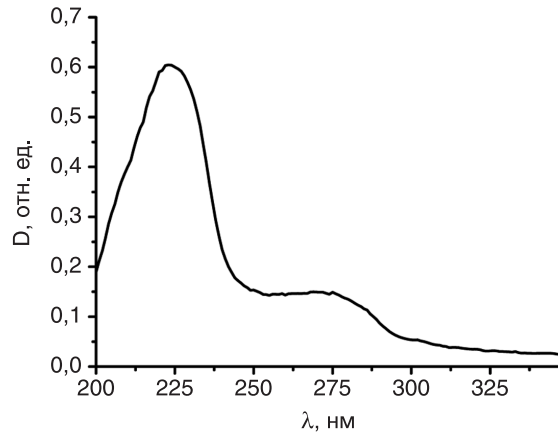


Рис. 4. **Спектры поглощения биопластического материала**

не наблюдается. Это свидетельствует о том, что процесс облучения не вызывает деградации ГК в составе биопластического материала, количество сшивок невелико и основная масса макромолекул не разрушается.

В спектрах поглощения проявляются два широких бесструктурных максимума. За коротковолновое поглощение ($\lambda < 230$ нм) ответственны молекулы ГК, длинноволновый максимум поглощения ($\lambda = 280$ нм) – результат суммарного поглощения входящих в состав питательной среды пептидов.

ИК-спектры поглощения полимерной пленки измеряли на ИК-спектрометре с Фурье-преобразованием «Инфралюм ФТ-02» с техническими характеристиками: спектральный диапазон измерений 350–6000 $см^{-1}$, предел погрешности 0,005 $см^{-1}$.

На рис. 5 приведены ИК-спектры поглощения двух образцов: пленки, полученной без УФ-облучения раствора (2) и биоматериала, полученного из этого же гидрогеля при УФ-облучении (1). После УФ-облучения незначительно меняется соотношение интенсивности полос поглощения и появляется новый максимум на 870 $см^{-1}$.

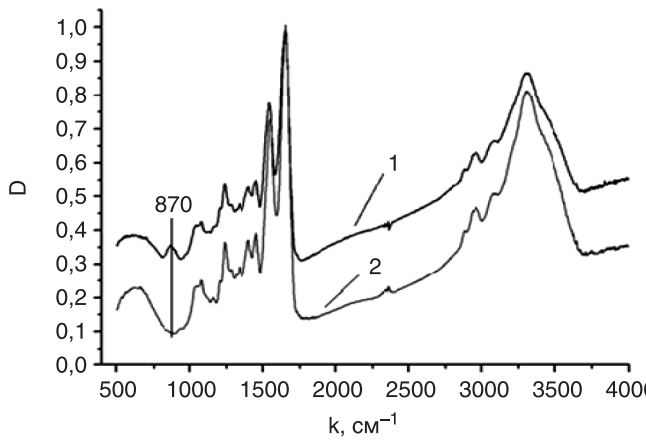


Рис. 5. **Нормированные ИК-спектры поглощения биополимеров: 1 – разработанный биополимер; 2 – биополимер, полученный из исходного гидрогеля без УФ-обработки**

Для выяснения природы вновь образовавшихся связей проанализируем характеристические частоты поглощения различных групп атомов (табл. 1). На 870 $см^{-1}$ могут проявлять себя валентные C – C колебания, симметричные и асимметричные C – O – C, ковалентно-связанные N = O, деформационные C – H колебания.

Таким образом, в результате УФ-облучения в биоматериале формируется система межмолекулярных сшивок и создается гибкий каркас с ха-

Таблица 1

Виды колебаний и функциональные группы

Волновое число, $см^{-1}$	Вид колебаний	Функциональная группа
800–900	Валентные колебания	C – C
830–940	Симметричные и асимметричные валентные колебания в алифатических простых эфирах	C – O – C
840–870	Ковалентно-связанные колебания	N = O
780–975	Деформационные колебания	C – H

рактерными размерами ячеек порядка 20–100 нм (см. АСМ-изображения, представленные ниже). Фотохимические сшивки придают материалу оптимальные биоинженерные свойства без ухудшения его физико-химических свойств. Данная технология позволяет формировать трехмерный упругий каркас биопластического материала редкими химическими сшивками между макромолекулами. Система ковалентных связей дополняется переплетениями макромолекул и лабильными водородными связями между ними.

Таким образом, устойчивый пространственный каркас, превращающий гидрогель в упругую полимерную пленку, формируется путем фотохимической сшивки макромолекул под действием жесткого ультрафиолетового излучения и за счет образования лабильных водородных связей в результате пространственного сближения полимерных цепей. Ранее такая технология для модификации ГК не применялась из-за низкой фотохимической активности простых полисахаридов. Однако в отличие от большинства других полисахаридов ГК содержит в боковых цепях амидокетогруппы. Эти термически устойчивые группы оказались фотохимически активными.

При исследовании пептидного компонента биопластического материала обнаружены пептидные комплексы различного аминокислотного состава с варьирующей молекулярной массой 244–459 Да (табл. 2). В обнаруженных пептидах превалируют алифатические (лейцин, изолейцин, аланин, глицин) и полярные незаряженные аминокислотные остатки: треонин, пролин, гистидин, серин, а также полярные заряженные аминокислотные остатки: аргинин, глутамин, аспарагин, лизин, аргинин. Присутствуют димеры изолейцинов и полимерные трипептиды, в том числе пептиды, содержащие ароматические аминокислотные остатки (триптофан) и полярные незаряженные аминокислотные остатки. Время удержания на колонке обнаруженных пептидов варьируется в интервале от 6,162 до 13,806 мин, погрешность измерения прекурсорных ионов – от 7,24 до 11,24 ppm, все пептиды зарегистрированы как псевдомолекулярные ионы в зарядном состоянии 1^+. При поиске в базе данных Uniprot/

TrEMBL зарегистрированные пептиды были выровнены по алгоритму BLAST и обнаружены как возможный неспецифичный потенциальный продукт ферментативного гидролиза хемотрипсином или термолизином 12 125 белковых молекул. В тандемном спектре распада обнаружены пики гистидина и бета-аланина, подтверждающие присутствие карнозина как уникального дипептида. Обнаружен пик карнозина с m/z 227,3273 в зарядном состоянии 1^+, соответствующий молекулярной массе 226,31. Время удержания карнозина составляет 8,38 мин, ошибка измерения прекурсорного иона 3,65 ppm.

Таблица 2

Результаты анализа проб пептидных компонентов гидроколлоида гиалуроновой кислоты

Состав	Хим. формула	Масса, Да	Дельта массы в нанопотоковом режиме	Масса в отн. ед.
Gly-Trp-Ile	$C_{19}H_{26}N_4O_4$	374,19541	–2,33	10,692
Arg-Gly-Asp	$C_{17}H_{35}N_7O_4$	432,24512	11,25	7,453
Ile-Asp-Ile	$C_{16}H_{29}N_3O_6$	359,20564	12,97	8,674
Phe-Arg-Pro	$C_{20}H_{30}N_6O_4$	418,23285	–0,29	9,024
Gln-His-His	$C_{17}H_{24}N_8O_5$	420,18697	–5,74	17,732
Ala-Trp-Lys	$C_{20}H_{29}N_5O_4$	403,22195	–5,76	8,934
Pro-His-Tyr	$C_{20}H_{25}N_5O_5$	415,18557	–11,10	14,407
Thr-Trp-Trp	$C_{26}H_{29}N_5O_5$	491,21687	–12,84	9,460
Lys-Phe-Thr	$C_{19}H_{30}N_4O_5$	394,22162	–7,25	8,854
Lys-Arg-Met	$C_{17}H_{35}N_7O_4S_2$	433,24712	10,73	9,102
Phe-Cys-Met	$C_{17}H_{25}N_3O_4S_2$	399,12865	4,19	11,108
Ile-Ile	$C_{12}H_{24}N_2O_3$	244,17869	8,67	11,038
Asp-Lys-Lys	$C_{16}H_{31}N_5O_6$	389,22743	16,59	8,863
Trp-Pro	$C_{16}H_{19}N_{33}O_3$	301,14264	–18,38	10,672
Glu-Thr	$C_9H_{16}N_2O_6$	248,10084	3,47	5,500
Desmosine	$C_{24}H_{40}N_5O_8$	526,28769	–15,37	9,523

Особый интерес представляет обнаружение в пробах десмозина (аминокислоты, производной лизина). Десмозин содержится в белке эластине. Благодаря своей разветвленной структуре, которая имеет четыре аминокислотные группы, одна молекула десмозина может входить одновременно в четыре пептидные цепи. Этим самым она скрепляет различные нити эластина и придает этому белку упругость. Таким образом, для получе-

ния биополимерного материала требуется гидроколлоид гиалуроновой кислоты, содержащий ди- и трипептидные компоненты.

На втором этапе методом полива или выдавливания именно такой гидрогель наносится тонким слоем (порядка 3 мм) на плоские гидрофобные поверхности для последующего УФ-облучения. Эмпирически показано, что, изменяя исходную концентрацию ГК и других компонентов в растворе, можно управлять характерными размерами нанокаркаса биопластического материала, образующегося при фотохимическом структурировании.

Методом сканирующей зондовой микроскопии была исследована поверхность биоматериала, что позволило с нанометровым латеральным пространственным разрешением охарактеризовать его структурные особенности.

Поверхность биопластического материала, визуализированная посредством атомно-силового микроскопа (АСМ), выглядит морфологически однородной (рис. 6). Ультраструктура поверхности препарата представлена глобулярными образованиями однотипной морфологии.

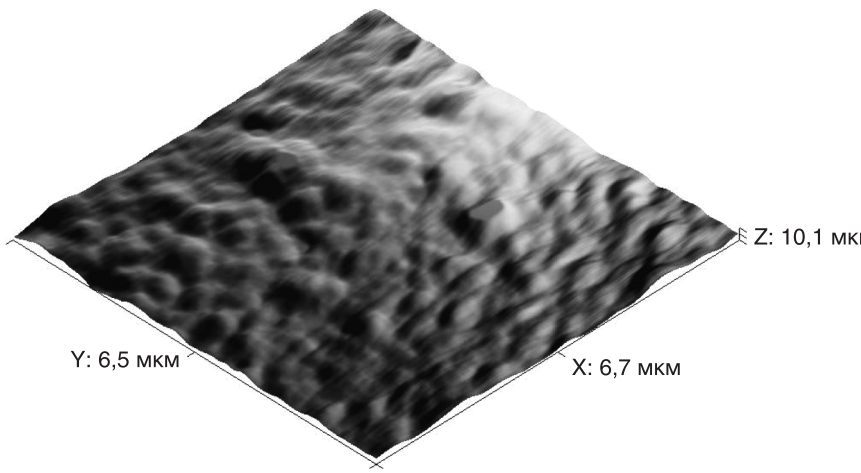


Рис. 6. **АСМ-профиль глобулярной структуры поверхности биоматериала**

АСМ-изображения позволили установить истинную трехмерную геометрию объектов по проведенным профилям. Морфометрический анализ размеров визуализированных глобулярных структур позволил рассчитать средние значения их длины, ширины и высоты с учетом формы и радиуса кривизны используемого зонда. Длина объектов составила 101,5 ± 11,2 нм, ширина – 110,3 ± 10,7 нм, высота – 23,4 ± 3,4 нм. При этом нужно отметить, что высота глобулярных объектов – величина относительная, поскольку получение точных значений высоты возможно только при рас-

положении глобулярных образований на поверхности подложки в виде одиночных объектов. Расстояние между глобулярными образованиями равно 127,2 ± 21,3 нм.

Степень развитости рельефа проанализирована по параметру среднеквадратичной шероховатости (Rq – отклонение точек профиля от его средней линии). Показано, что поверхность исследуемого препарата представляет собой однородную текстуру с значениями Rq – 8,7 ± 0,5 нм (рис. 7).

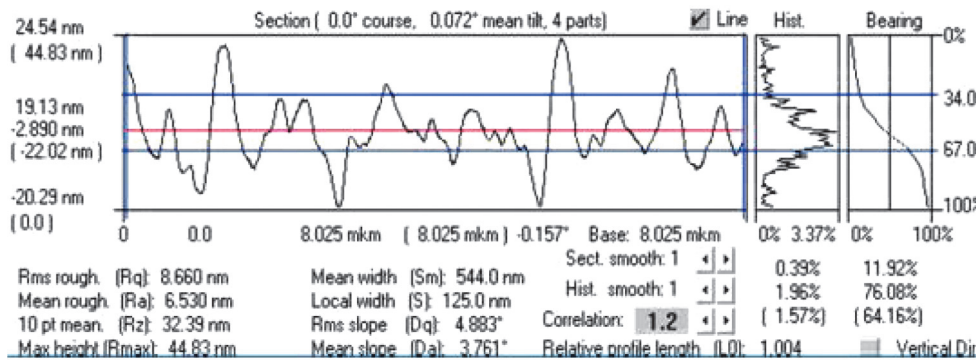


Рис. 7. **Среднеквадратичная шероховатость поверхности разработанного биоматериала**

Морфология биоматериала представлена преимущественно глобулярными образованиями, формирующими разветвленную трехмерную структуру с порами диаметром от десятков до нескольких сотен нанометров. Подобная трехмерная организация предоставляет возможность свободной диффузии культуры по всему объему материала. Материал отличается стабильностью морфологических и относительной стабильностью механических параметров при увлажнении, что благоприятно сказывается на хранении и культивировании клеток при различных условиях окружающей среды.

Адгезия биопластических материалов на ране и эффективность миграции клеточных элементов в репаративном гистогенезе определяются, с одной стороны, их гидрофильными/гидрофобными свойствами, а с другой – микрорельефом. Известно, что закрепление соматических клеток с большей вероятностью происходит на поверхности материалов, обладающих высокой поверхностной энергией (на гидрофильной поверхности), а на основные клеточные процессы (рост, дифференциация, миграция) в большей степени оказывают влияние геометрические и размерные особенности рельефа биоматериала (Tamada Y., Ikada Y., 2003).

Гидрофильные/гидрофобные свойства биоматериала оценивали методом фиксации контактного угла воды, значение которого составило 83°.

На этой основе рассчитали работу адгезии (Wa), которая с учетом коэффициента шероховатости, оказалась равной 99,88 мДж/м^2, что характеризует поверхность материала как умеренно смачиваемую (Tamada Y., Ikada Y., 2003).

Термодинамическая работа воды на поверхности биополимера определялась по краевому углу смачивания. Зафиксированные значения сил сцепления характеризуют биополимер как умеренно гидрофильный материал. Подобный результат может объясняться присутствием воздуха в полостях и порах биоматериала, который препятствует проникновению воды.

Гидрофильные/гидрофобные свойства биополимера зависят не только от физико-химических свойств, но и от его структурных особенностей. Подтверждением этого стала прямая визуализация поверхности биоматериала в режиме адгезионно-контактной атомно-силовой микроскопии (рис. 8). Полученные результаты свидетельствуют о наличии значительных по отношению к визуализированной площади участков на поверхности биоматериала, проявляющих адгезивные свойства.

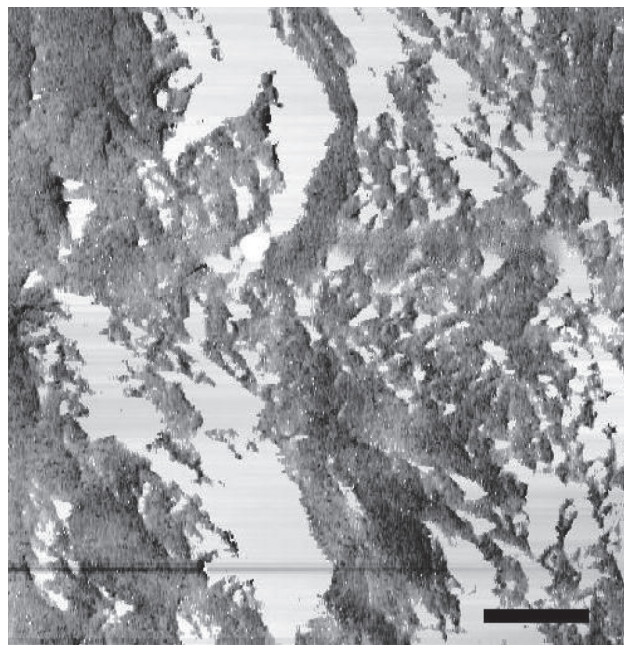


Рис. 8. **АСМ-изображение распределения сил адгезии на поверхности биополимерного материала. Шкала – 500 нм**

Результаты культивирования клеток на поверхности биоматериала *in vitro* показали отсутствие какого-либо негативного влияния исследуемого материала на культуру мультипотентных мезенхимально-стро-

мальных клеток. Сведения о культивировании клеток и морфологии свидетельствуют об отсутствии значимых изменений в контрольной и исследуемой группах. Морфометрические данные по эксперименту указывают на некоторое уменьшение площади клеток в исследуемой группе – 3284,51 мкм^2 (Min 292,63 мкм^2; Max 32 359,53 мкм^2) против 3826,65 мкм^2 (Min 350,93 мкм^2; Max 36 733,7 мкм^2), при сопоставимой скорости пролиферации, что свидетельствует о хорошем состоянии клеток при продолжительном культивировании. Оценка способности клеток к таксису показала схожие результаты, дистанция движения клеток составила 281,50 мкм (Min 33,0 мкм; Max 722,0 ± 154,78 мкм) в исследуемой группе против 234,00 мкм (Min 23,0 мкм; Max 684,0 ± 155,01 мкм) в контроле, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния материала на клетки. Результаты иммунофенотипирования не позволили выявить какого-либо различия в группах, все клетки после культивирования экспрессировали стандартный набор стромальных антигенов CD 44, 73, 90, 105 и были негативны к гемопоэтическим маркерам CD 14, 34, 45, HLA-DR. Способность клеток адгезироваться и расти на исследуемом материале была доказана наличием окрашенных клеток при окраске красителем Гимзы и их ядер при окрашивании специфическим красителем DAPI, активным только в присутствии ДНК.

В результате 26-дневного культивирования клеток получен задокументированный видеофакт митотической активности клеток, а также формирование в толще материала лакун, в которых располагались клетки (рис. 9).

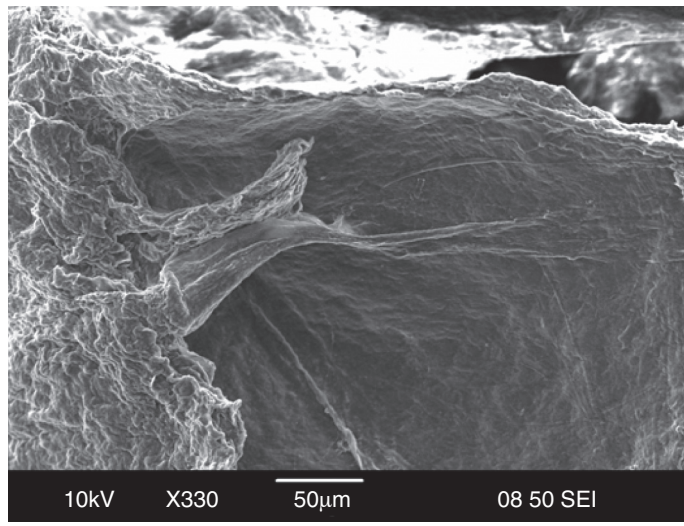


Рис. 9. **Сканирующая электронная микроскопия расположения клетки в «лакуне» материала**

На поверхности биоматериала детектированы клетки продолговатой формы шириной 3,7 мкм (рис. 10, а). На поверхности клетки обнаружены переплетающиеся фибриллярные волокна (рис. 10, б). Характер их расположения свидетельствует о наличии у культивируемых мезенхимальных стволовых клеток процессов миграции, в ходе которых они активно взаимодействуют с поверхностью подложки, проникая в подлежащий матрикс.

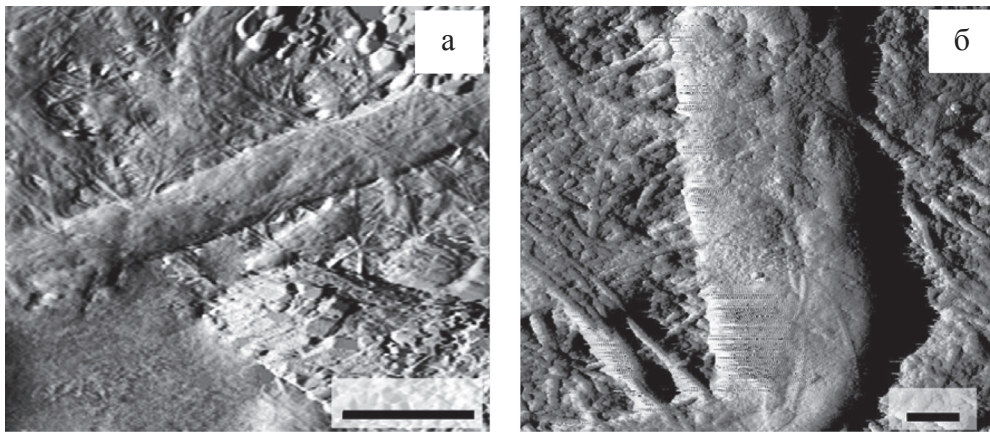


Рис. 10. **АСМ-изображение мезенхимальной стволовой клетки на поверхности биополимерного материала: а – шкала 5 мкм; б – шкала 2 мкм**

Таким образом, материал не оказывает негативного влияния на мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки при культивировании, позволяет клеткам адгезироваться и расти.

Благодаря модификации базовой технологии (Патент РФ № 2513838 от 09.01.2014 г.; заявления на выдачу патента РФ № 2013150735 от 15.11.2013 г. и № 2014101274 от 17.01.2014 г.) был разработан пластический материал второго поколения, обозначенный нами как «гистоэквивалент-биопластический материал» или «матрица G-DERM».

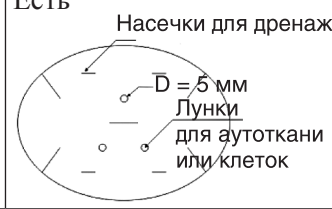
В табл. 3 представлены детальные различия между материалами первого (Гиаматрикс) и второго (G-derm) поколений.

В дальнейших исследованиях по клеточному культивированию *in vitro* был использован вариант объемной (3D) матрицы G-DERM, которая имеет следующие морфометрические параметры:

- толщина от 3 до 100 мм;
- степень пористости от 70 до 90%;
- гетерогенное распределение пор со средним размером 252,16 ± 98,73 мкм;

Таблица 3

Различия материалов «Гиаматрикс» и «G-derm»

Параметры сравнения	Гиаматрикс	G-derm
Назначение	Биопластический материал	1. Гистоэквивалент-биопластический материал 2. Матрица для культивирования клеток
Состав	Гиалуроновая кислота, матричный пептид	Гиалуроновая кислота, пептидный комплекс (адгезивный пептид и пептиды-регуляторы)
Форма выпуска	Прямоугольные пластины	Овальные пластины
Наличие дренажных отверстий и лунок для аутотканей	Нет	Есть 
Возможность дренирования ран	Слабая	Оптимальная
Сочетание с клеточными технологиями	Не сочетается	Сочетается
Адгезия (прилипание к ране)	Умеренная	Высокая
Дерматоглифика кожи человека	Отсутствует	Присутствует

– длина глобулярных образований на поверхности материала при исследовании методами туннельной микроскопии 101,5 ± 11,2 нм, ширина 110,3 ± 10,7 нм, высота 23,4 ± 3,4 нм.

В исследованиях *in vitro* была определена способность 3D-матрикса G-DERM поддерживать миграцию клеток внутрь губки со своей поверхности (куда изначально садятся клетки при посеве). Для этого был проведен гистологический анализ материала после клеточного культивирования в полной ростовой среде в течение 21 сут для постнатальных фибробластов кожи человека (ФЧ), мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека (МСКЖТ), эпидермальных кератиноцитов кожи человека (ЭКЦ).

На губке 3D-матрикса G-DERM наблюдалось трехмерное распределение клеток по всей ее структуре, в том числе миграция в глубину матрикса (рис. 11–16). Плотность клеток максимальна на поверхности и в

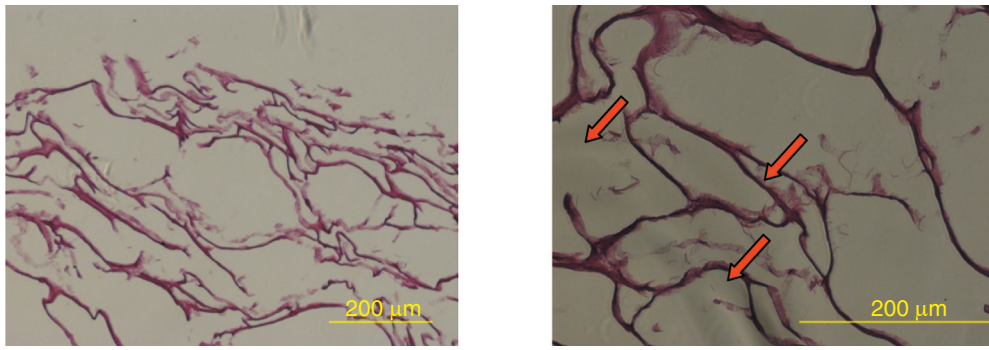


Рис. 11. **Гистологический срез 3D-матрикса G-DERM с культурой клеток ФЧ, клетки отмечены стрелками. Окраска гематоксилин-эозином**

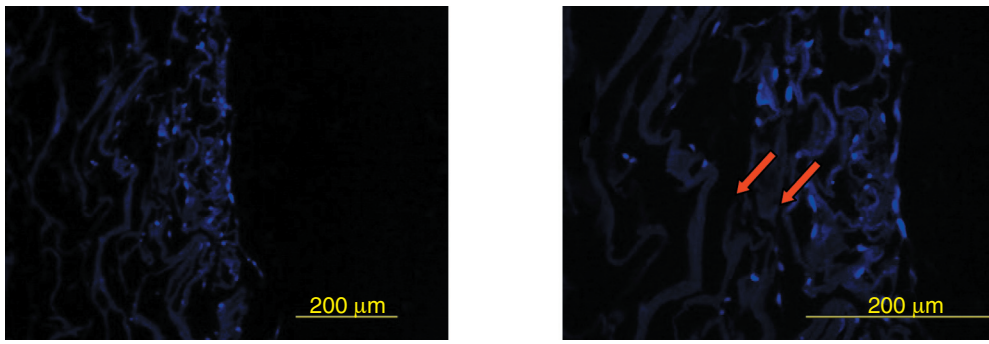


Рис. 12. **Гистологический срез губки 3D-матрикса G-DERM с культурой клеток МСКЖТ, ядра клеток отмечены стрелками. Окраска ядер клеток DAPI**

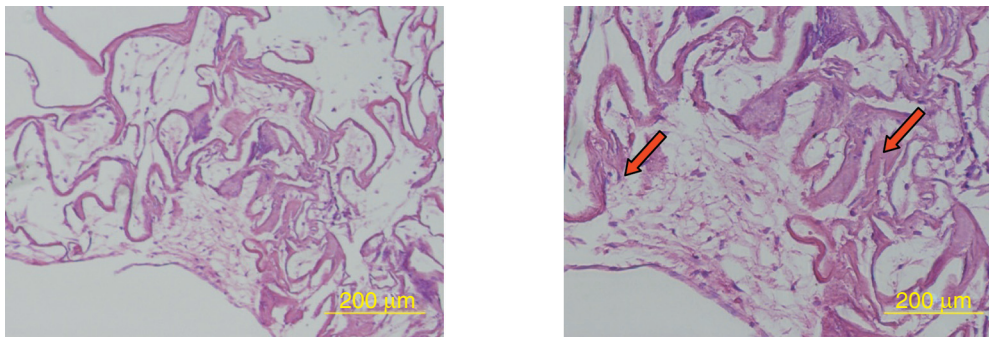


Рис. 13. **Гистологический срез 3D-матрикса G-DERM с культурой клеток, клетки отмечены стрелками. Окраска гематоксилин-эозином**

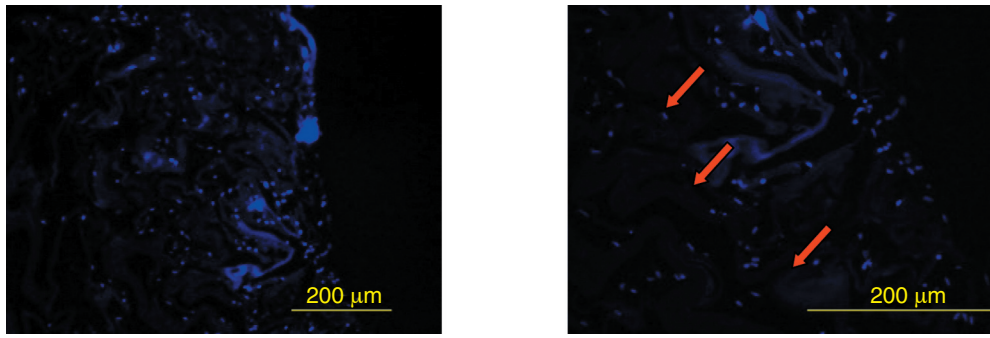


Рис. 14. **Гистологический срез губки 3D-матрикса G-DERM с культурой клеток МСКЖТ, ядра клеток отмечены стрелками. Окраска ядер клеток DAPI**

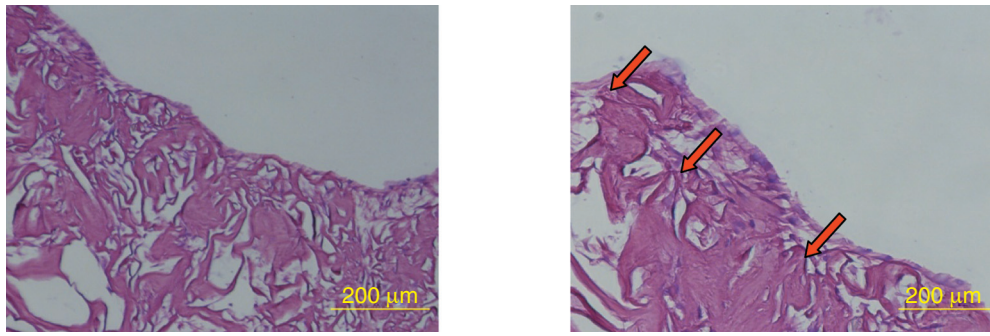


Рис. 15. **Гистологический срез 3D-матрикса G-DERM с культурой клеток ЭКЦ, клетки отмечены стрелками. Окраска гематоксилин-эозином**

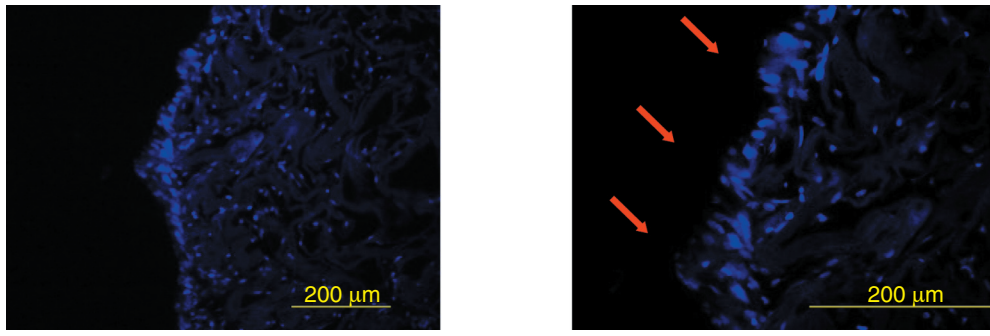


Рис. 16. **Гистологический срез губки 3D-матрикса G-DERM с культурой клеток ЭКЦ, ядра клеток отмечены стрелками. Окраска ядер клеток DAPI**

ближайших слоях и постепенно падает к центру толщины губки. Важно отметить, что в *варианте с культурой ЭКЦ наблюдается образование эпителиального слоя на поверхности матрикса.*

Результаты экспериментального исследования биологического действия материала в эксперименте *in vivo* демонстрируют высокую степень биосовместимости биополимера с тканями в области имплантации. При этом важно, что не происходит отторжения каркаса, а наблюдается классическая реакция репарации с формированием грануляционной ткани, ограничением биопластического материала, последующим его рассасыванием с замещением созревающей соединительной тканью и снижением клеточных реакций. Реакция на биоматериал проходит по асептическому типу с формированием четких границ и сохранением нормальной гистоструктуры в окружающих тканях без рубцовых изменений.

Анализ данных, полученных в ходе экспериментов *in vivo* на 30 крысах линии Wistar, позволяет заключить, что биопластический материал ускоряет регенерацию экспериментальной раны в опытной группе в среднем на 30% относительно контроля. Также установлено, что биоматериал подвергается биодеградации по мере эпителизации раны, причем кинетика биодеградации по времени совпадает с продолжительностью репаративного гистогенеза.

Данный эффект достигается за счет оптимальной структуры биоматериала. В ране формируется биологический струп (рис. 17), и постепенно, в течение 14 сут, наблюдается процесс ее метаболизации (рис. 18).

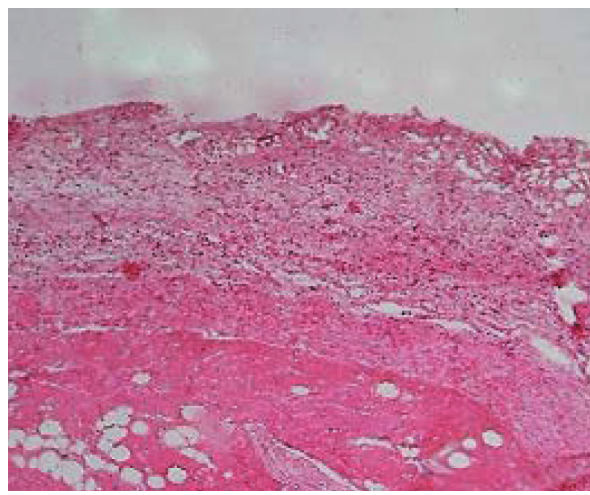


Рис. 17. **Формирование биологического струпа в ране на основе биоматериала. Окраска гематоксилином и эозином. ×100 (об. ×10, ок. ×10)**

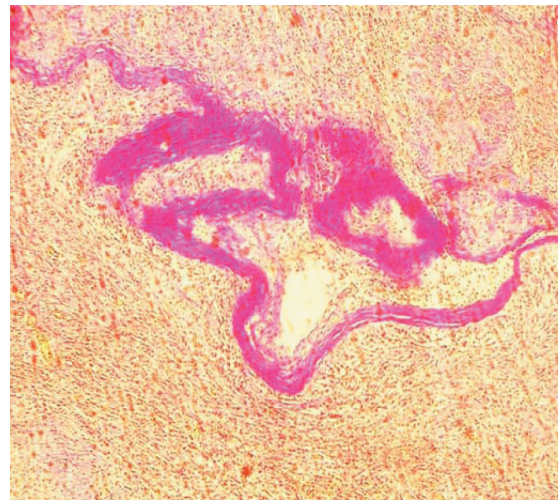


Рис. 18. **14-е сутки после первичной хирургической обработки экспериментальной раны и применения биоматериала. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону. Ок. ×10; об. ×10**

На месте резорбирующихся участков материала формируется нежноволокнистая соединительная ткань, предупреждается развитие грубых рубцовых изменений. В контрольной группе заживление раны происходило в среднем по срокам на 30% дольше, кроме того, отмечалось формирование грубой волокнистой ткани и рубцов (рис. 19).

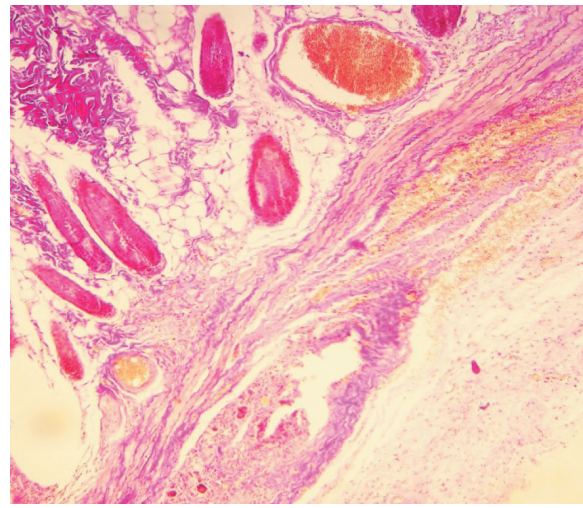


Рис. 19. **Контрольная группа, 21-е сут после первичной хирургической обработки раны и применения биоматериала. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону. Ок. ×10; об. ×10**

Пролонгированное присутствие биоматериала в ране позволяет сформировать оптимальную внеклеточную среду для миграции и усиления митотической активности клеток. Регенеративная ткань формируется под покровом пластического материала, причем между трансплантатом и подлежащими тканями не возникает сращений и плотной связи, а происходит диффузионный обмен. Эффективность применения биоматериала в экспериментальных условиях составила 100%.

Применение биоматериала в клинических условиях на больных, имеющих трофические язвы на фоне варикозной болезни нижних конечностей (ВБНК) и посттромбофлебической болезни (ПТФБ) стало следующим этапом работы. Изучение и анализ клинических наблюдений с 2007-го по 2012 г. проводились на клинических базах кафедры госпитальной хирургии и урологии Оренбургской государственной медицинской академии, расположенных в городской клинической больнице № 1 г. Оренбурга.

В исследование были включены пациенты, длительно страдающие трофическими язвами, в том числе с неэффективной традиционной терапией и с неудачными исходами хирургических методов лечения, неблагоприятным прогнозом по язвенному дефекту различной локализации, не имеющего тенденции к самостоятельному заживлению. У всех пациентов отмечались обширные язвенные дефекты, средняя площадь которых составляла 95,5 ± 3 см^2.

Местная терапия трофических язв была этапной и соответствовала определенной фазе раневого процесса (по классификации раневого процесса, предложенной М.И. Кузиным (1977)). В I фазу раневого процесса осуществляли очищение (туалет) и санацию трофической язвы и защиту окружающих тканей с использованием антисептиков (3% раствор борной кислоты, раствор Эплана, мирамистин и диоксидин). При наличии гнойного отделяемого из трофических язв применяли мази на гидрофильной основе (Левомеколь, Левосин, Диоксидин). Для очистки области язвенного дефекта от значительных наложений фибрина применяли протеолитические ферменты в виде мазей (Ируксол) или в составе специальных перевязочных средств, импрегнированных протеазами (Дальцикс-трипсин, ПАКС-трипсин). На этапе перехода раневого процесса во II фазу, когда отмечалось формирование грануляционной ткани, применяли разработанный способ биопластики с использованием разработанного биоматериала.

Выполняли туалет раны. Края раны иссекали с получением округлых кусочков жизнеспособной ткани кожи размером 0,5 на 1 мм, которые затем помещали в стерильный физиологический раствор температурой 36–37 °С. На подготовленную рану гладкой поверхностью накладывали пластический материал, пинцетом и ватным влажным тампоном его тщательно расправляли таким образом, чтобы материал полностью принял все рельефы подлежащих тканей и выступал за края раны на 0,5–1 см. Критерием правильного наложения мы считали отсутствие воздушных «карманов» и зате-

ков. Материал при этом становился эластичным за счет внешнего увлажнения тампоном, смоченным антисептиком, и впитывания раневого экссудата. Благодаря микроперфорациям под материалом не отмечалось скопления жидкости, наблюдался эффект дренирования ран. После того как материал прилипал к ране и превращался в эластичную мембрану, в заранее выполненные скальпелем или ножницами лунки числом 3–5 на пластину средним диаметром до 10 мм укладывали извлеченные из физиологического раствора кусочки жизнеспособных тканей самого пациента. Этот этап был обозначен как «частичная (парциальная) аутопластика». После заполнения всех лунок материала аутотканевыми элементами на его поверхность накладывали вторую пластинку, так чтобы лунки подлежащего слоя были закрыты пластинкой второго листа биоматериала. Сверху на материал помещали атравматическое раневое покрытие, так чтобы захватывалось не менее 1–2 см от краев раны. Затем сверху без нажима накладывали стерильную марлевую салфетку и производили бинтование. Выполнялась легкая компрессия.

Дальнейшее ведение раны осуществляли посредством этапных смен наружной повязки, в ходе которых проводится контроль процесса заживления (эпителизации) язвы. При обильном промокании повязки раневым (негнойным!) отделяемым смену наружной повязки производили ежедневно.

При смене наружной повязки визуально определяли состояние раны: отсутствие воспалительного инфильтрата, гиперемии и отечности. В случае аллергических реакций на компоненты материала биопластику отменяли и пациента исключали из основной группы (1 случай наблюдения). При частичной биодеградации материала этот участок дополнялся новым лоскутом материала (рис. 20). Кроме того, хорошим прогностическим признаком считали наличие нежного, тонкого, нестратифицированного эпителия по краю раны и/или наличие явления островчатой эпителизации, которую можно наблюдать при частичной метаболизации материала или при аккуратном его удалении.

Рис. 20. **Наложение и адгезия биоматериала в области язвенного дефекта**

Объективным подтверждением улучшения состояния трофических язв служило динамичное уменьшение площади язвенной поверхности, которое оценивалось методом фотопланиметрии с учетом краевой и очаговой эпителизации. Степень уменьшения площади язвенной поверхности за сутки у больных основной группы составила в среднем 2,7 ± 0,7% (5,2 ± 0,6% у больных ВБНК и 2,2 ± 0,7% у больных с ПТФБ).

У 9 больных (30% от общего числа волонтеров) на 8–10-е сут после выполнения биопластики отмечалось значительное снижение репаративной активности и практически нулевая скорость уменьшения площади язвенного дефекта. При выполнении повторной биопластики не удалось достичь сокращения площади язвы, и пациентам была рекомендована кожная аутодермопластика, которая была более успешной, поскольку рана стала выравненной по глубине и заполнена грануляционной тканью.

На 28-е сут от начала лечения у 21 больного (70%) (с ВБНК у 17 чел. (54,8%) и с ПТФБ у 4 чел. (12,9%)) трофические язвы полностью эпителизировались. Среди неэпителизировавшихся язв площадь последних уменьшилась более чем на 50% у 8 больных (25,8%) (с ВБНК у 3 чел. (9,7%) и с ПТФБ у 5 чел. (16,1%)). У 1 больного (6,6%) с ПТФБ площадь трофических язв уменьшилась менее чем на 50%.

Результаты микробиологических исследований в динамике показали санирующий эффект в виде увеличения доли стерильных посевов, что, несомненно, отражает эффективность выбранной антибиотикотерапии и, вероятно, связано с эффектом защиты раны пластическим материалом от внешней бактериальной агрессии и стимуляцией регенеративных процессов в области язвенного дефекта.

Цитологический метод исследования мазков-отпечатков с поверхности трофических язв показал, что использование метода биопластики приводит к увеличению клеток, характеризующих регенераторную активность (макрофагов, фибробластов), и уменьшению клеток острого воспаления (нейтрофилов). Кроме того, выявлено значительное увеличение эпителиальных клеток. Результаты цитологического метода исследования подтверждены клиническими данными и свидетельствуют о том, что использование метода биопластики стимулирует регенераторные процессы трофических язв.

Полученные результаты свидетельствуют о значительном улучшении течения процессов регенерации в области язвенных дефектов и демонстрируют положительный эффект в группе пациентов с длительным «язвенным анамнезом» и неэффективным традиционным лечением.

Средняя продолжительность стационарного лечения больных основной группы составила от 21 до 25 дней. За период наблюдения в течение 5 лет у 6 больных (20%) основной группы были выявлены рецидивы трофических язв, которые в основном были связаны с нарушением режима в виде отказа от эластичной компрессии нижних конечностей.

При проведении малоинвазивных эндоскопических и микрохирургических операций в оториноларингологии требуются готовые тканеинженерные конструкции с оптимальной фиброархитектоникой и функциональными свойствами, обеспечивающими эффективную репарацию замещаемых структур [Ашмарин М.П., 2006]. В отоларингологии для восстановления целостности барабанной перепонки используют биотрансплантаты, которые благодаря пластинчатому строению восполняют лишь дефекты барабанной перепонки. К таким биоматериалам относятся: OrCel-matrix, Apligraf, HYAFF, аутофасция височной мышцы [Agrawal C.M, 1997; Brown T.J. et al., 1999; Brun P. et al., 1999; Burg K.J.L., 2000; Temenoff J.S., Mikos A.G., 2000; Pathiraja A. et al., 2003]. В результате применения биоматериалов образуется неотимпанальная мембрана с недостаточным восстановлением слуховой функции. Разработанный нами биоматериал благодаря оптимальным биоинженерным свойствам (эластичность, адгезия, позволяющая ему закрепляться по периферии в барабанное кольцо и находиться на границе раздела двух воздушных сред) показан для применения в отохирургии. Для пластики дефекта барабанной перепонки из биоматериала выкраивается лоскут, превосходящий на 2 мм диаметр перфорации барабанной перепонки.

При изучении виброакустических свойств восстановленной барабанной перепонки с помощью лазерного автодинного измерителя по методике О.В. Мареева установлено, что подвижность барабанной перепонки в центральной части составила 160 нм, в задненижнем квадранте – 270 нм, в задневерхнем квадранте – 210 нм, в переднениженем квадранте – 200 нм.

При сравнительном анализе колебаний нативной и неотимпанальной мембран установлено, что их профиль амплитуд является сопоставимым.

Созданная искусственная мембрана на основе разработанного пластического материала успешно применялась для закрытия дефекта барабанной перепонки у больных ЛОР-отделения городской клинической больницы № 1 г. Оренбурга. Готовый к применению пластический материал хранится в лиофилизированном состоянии в вакуумной упаковке в темном сухом месте при температуре +4 °С в течение 36 мес.

Пластический материал обладает адгезивными свойствами, благодаря которым при мирингопластике прилипает к остаткам барабанной перепонки, в связи с чем тампонада наружного слухового прохода не производилась (рис. 21).

После закрытия дефекта барабанной перепонки у больных улучшался или восстанавливался слух, купировался шум в ушах.

В группе больных с хроническим туботимпанальным средним отитом, имеющим дефект барабанной перепонки диаметром до 5 мм, после пластических операций с использованием искусственной барабанной перепонки положительный анатомический результат имел место в ближайшем периоде наблюдения у 18 (90%) больных, в отдаленном периоде

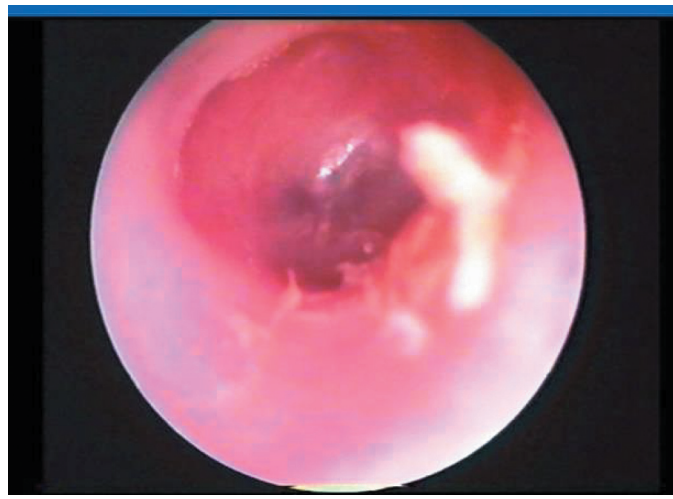


Рис. 21. **Укладка биопластического материала на область дефекта барабанной перепонки**

наблюдения – у 20 (100%). Положительный функциональный результат с улучшением слуховой функции наблюдался в ближайшем периоде наблюдения у 18 (90%) пациентов, в отдаленном периоде наблюдения – у 20 (100%) человек.

У пациентов с хроническим эпитимпано-антральным средним отитом использование разработанного материала для пластики дефектов барабанной перепонки эффективно. Положительный анатомический результат в ближайшие сроки наблюдения был у 17 (85%) пациентов, в отдаленном периоде наблюдения – у 18 (90%). Положительные функциональные результаты с улучшением слуха установлены в ближайшем периоде наблюдения у 17 (85%) человек, в отдаленном периоде наблюдения – у 16 (80%) человек.

Методика использования искусственной барабанной перепонки для формирования неотимпанальной мембраны у больных с болезнью оперированного уха показала положительный анатомический результат в ближайшие сроки наблюдения у 7 (70%) оперированных больных, в отдаленном периоде наблюдения – у 9 (90%) пациентов. Положительный функциональный результат в ближайшие сроки наблюдения установлен у 7 (70%) больных, в отдаленном периоде наблюдения он не изменился и установлен у 7 (70%) пациентов.

Искусственная барабанная перепонка – высокоэффективный пластический материал, который можно использовать для пластики рецидивов дефекта неотимпанальной мембраны, возникших в ближайшем послеоперационном периоде после хирургических вмешательств на среднем ухе у больных хроническим средним отитом. Положительный анатомический результат наблюдался у 19 (95%) оперированных больных.

Также положительный анатомический результат наблюдался у 17 (85%) больных. У 3 (15%) пациентов с рецидивами дефекта барабанной перепонки для восстановления целостности тимпанальной мембраны пришлось повторно укладывать на дефект искусственную барабанную перепонку, и в итоге удалось добиться положительного анатомического результата у всех 20 (100%) больных. Положительные функциональные результаты с улучшением слуха имели место у 17 (85%) пациентов. У 3 (15%) человек слух улучшился после закрытия дефекта барабанной перепонки повторными укладками искусственной барабанной перепонки.

Обобщение полученных в результате клинических наблюдений данных позволяет предложить его использование в оториноларингологической практике, в частности при оказании неотложной хирургической помощи больным с острым посттравматическим разрывом тимпанальной мембраны, при плановых хирургических вмешательствах у больных хроническим средним отитом.

Проведенные клинические исследования позволяют сделать предположение, что биопластический материал будет так же эффективен и в других областях хирургии.

ВЫВОДЫ

1. Разработана технология фотохимического микро-наноструктурирования гидроколлоида гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса, позволяющая получать пластический эластичный материал толщиной 350–500 мкм, с однородной глобулярной поверхностью и наношероховатым рельефом поверхности (Rq – 8,7 ± 0,5 нм), обладающий адгезивными свойствами, умеренной гидрофильностью и морфологическим сходством с эпидермальным слоем кожи.
2. По разработанной программе биологических испытаний изделий, длительно контактирующих с тканями пациента, методами *in vitro* и *in vivo* доказана биологическая безопасность биоматериала.
3. В экспериментах в условиях *in vitro* выявлена способность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток адгезироваться и пролиферировать на поверхности и в порах биорезорбируемого пластического материала.
4. Исследования *in vitro* на выделенных культурах кератиноцитов и фибробластов на 3Б-биопластических материалах «G-DERM» показали трехмерное распределение данных клеток по всей структуре (отмечена миграция фибробластов в глубину материала) и формирование эпителиального слоя на поверхности данного матрикса, что предполагает перспективное использование биопластического материала для разработки новых тканеинженерных конструкций.

5. В условиях экспериментальной модели эксцизионной раны проведен сравнительный анализ функциональных свойств биопластического материала. Показано, что пластический материал способен адгезироваться к тканям раневого дефекта, формировать биологический струп, ускорять на 30+5% сроки регенерации, а также метаболизироваться по мере эпителизации раны.
6. На основе полученных экспериментальных данных разработаны медико-технические и технические требования к самому биопластическому материалу и его производству.
7. Изучена клиническая эффективность биопластического материала в группе пациентов с длительными незаживающими трофическими язвами на фоне сосудистой патологии и малоэффективной традиционной терапии. Разработаны показания и инструкция применения биопластических материалов.
8. Экспериментально апробирован и внедрен в клинику биопластический материал как имплантат для пластики дефектов барабанной перепонки у больных хроническим средним отитом, болезнью оперированного уха и острым посттравматическим разрывом тимпанальной мембраны.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для применения в широкой клинической практике общей и пластической хирургии, комбустиологии в целях эффективного восстановления дефектов покровных тканей различной этиологии рекомендован новый биопластический материал «Гиаматрикс» (Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10313 от 18.03.2011 г.).
2. Показанием к применению биопластического материала является дефект покровных тканей любой этиологии.
3. Противопоказанием служит наличие системных, а также острых и хронических инфекционно-аллергических заболеваний.

Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации

Публикации в научных изданиях, рекомендованных ВАК при соискании ученой степени доктора биологических наук

1. *Гарифзянова С.М.* Формирование неотимпанальной мембраны при хирургическом лечении больных хроническим гнойным и острым посттравматическим средним отитом / С.М. Гарифзянова, Р.Р. Рахматуллин, В.Н. Щетинин // Российская оториноларингология. – 2007. – № 2 (27). – С. 25–28.

2. *Рахматуллина Л.Р.* Биохимические подходы к разработке биосовместимых материалов / Л.Р. Рахматуллина, Е.С. Барышева, Р.Р. Рахматуллин, О.И. Бурлуцкая // Вестник ОГУ. – 2009, октябрь. – С. 685–686.
3. *Стадников А.А.* Новый биопластический материал для регенерации покровных тканей (данные электронно-микроскопических исследований) / А.А. Стадников, Р.А. Забиров, В.Н. Щетинин, Р.Р. Рахматуллин, Л.В. Коваленко // Российская оториноларингология. – 2009. – № 3 (40). – С. 100–102.
4. *Забиров Р.А.* Восстановление целостности барабанной перепонки при травматических ее повреждениях / Р.А. Забиров, Р.Р. Рахматуллин, С.М. Гарифзянова, Л.Р. Рахматуллина // Вестник оториноларингологии. – 2009. – № 5. – С. 87–88.
5. *Rakhmatullina L.R.* Development of cell biomatrits based on hyaluronic acid / L.R. Rakhmatullina, E.S. Barysheva, R.R. Rakhmatullin // European journal of natural history. – 2010. – № 4. – P. 11–12.
6. ***Рахматуллин Р.Р.*** Наноструктурированный материал «Гиаматрикс» / Р.Р. Рахматуллин, О.И. Бурлуцкая, Л.Р. Адельшина, Т.И. Бурцева // Врач. – 2011. – № 5. – С. 22–24.
7. ***Рахматуллин Р.Р.*** Исследование биологической совместимости нового биоматериала «Гиаматрикс» / Р.Р. Рахматуллин, О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Гильмутдинова // Врач. – 2011. – № 6. – С. 32–34.
8. *Адельшина Л.Р.* Алгоритм применения биоматериала «Гиаматрикс» в условиях эксперимента / Л.Р. Адельшина, И.Р. Гильмутдинова, О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Рахматуллин // Врач. – 2011. – № 7. – С. 25–26.
9. ***Рахматуллин Р.Р.*** Эффективность нового метода восстановления дефекта кожи у больного с врожденным буллезным эпидермолизом: клиническое наблюдение / Р.Р. Рахматуллин, О.И. Бурлуцкая, Л.Р. Адельшина, Т.И. Бурцева // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10. – № 2. – С. 190–192.
10. ***Рахматуллин Р.Р.*** Биопластический материал на основе гиалуроновой кислоты: биофизические аспекты фармакологических свойств / Р.Р. Рахматуллин // Фармация. – 2011. – № 4. – С. 37–39.
11. *Летута С.Н.* Оптическая диагностика клеток биологических тканей в процессе их культивирования на полимерных средах / С.Н. Летута, В.С. Маряхина, Р.Р. Рахматуллин // Квантовая электроника. – 2011. – Т. 41. – № 4. – С. 314–317.
12. *Бурлуцкая О.И.* Токсико-фармакологические исследования биоматериала «Гиаматрикс» // Фармация. – 2011. – № 5. – С. 45–47.
13. *Гильмутдинова И.Р.* Органоспецифический регенерат GI-биопластический материал нового поколения / И.Р. Гильмутдинова, Р.Р. Рахматуллин, Р.Г. Гильмутдинов // Фармация. – 2011. – № 6. – С. 50–52.
14. *Бурлуцкая О.И.* Современное состояние и перспективные тенденции рынка биопластических материалов / О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Рахматуллин, Р.Г. Гильмутдинов, Т.И. Бурцева, И.Р. Гильмутдинова // Фармация. – 2011. – № 7. – С. 49–51.

15. *Гильмутдинова И.Р.* Восстановление костной ткани с помощью органоспецифического регенерата GI / И.Р. Гильмутдинова, Р.Г. Гильмутдинов, Р.Р. Рахматуллин // Фармация. – 2011. – № 8. – С. 40–41.
16. *Летута С.Н.* Длительная люминесценция органических красителей в клетках биологических тканей / С.Н. Летута, В.С. Маряхина, С.Н. Пашкевич, Р.Р. Рахматуллин // Оптика и спектроскопия. – 2011. – Т. 110. – № 1. – С. 72–75.
17. ***Рахматуллин Р.*** Лечение трофических язв биоматериалом «Гиаматрикс» / Р. Рахматуллин, В. Смолевский, О. Бурлуцкая // Врач. – 2011. – № 8. – С. 21–23.
18. ***Рахматуллин Р.Р.*** Фармакоэкономические исследования биопластического материала «Гиаматрикс» / Р.Р. Рахматуллин, О.И. Бурлуцкая, И.Р. Гильмутдинова // Врач. – 2011. – № 9. – С. 59–61.
19. *Смолевский В.* Использование биокожи «Гиаматрикс» для лечения вялогранулирующих ран / В. Смолевский, Л. Адельшина, Р. Рахматуллин // Врач. – 2011. – № 10. – С. 63–64.
20. *Бурлуцкая О.* Применение биоматериала «Гиаматрикс» после инвазивных процедур в пластической хирургии и косметологии / О. Бурлуцкая, Р. Рахматуллин, Н. Колесова, Т. Бурцева // Врач. – 2011. – № 11. – С. 22–24.
21. ***Рахматуллин Р.Р.*** Применение биоматериала «Гиаматрикс» (Hyamatrix) в арсенале современных методов лечения ожогов и ожоговой болезни / Р.Р. Рахматуллин, О.И. Бурлуцкая, Р.Г. Гильмутдинов // Врач. – 2011. – № 12. – С. 44–46.
22. ***Рахматуллин Р.*** Применение нового биопластического материала «Гиаматрикс» в оториноларингологии / Р. Рахматуллин, Р. Забиров, О. Бурлуцкая // Врач. – 2011. – № 13. – С. 32–33.
23. *Макеев О.* Перспективная биосовместимая матрица для создания тканеинженерной конструкции эпителия роговицы человека / О. Макеев, С. Коротких, Р. Рахматуллин, М. Герасимов // Врач. – 2011. – № 14. – С. 25–27.
24. *Бурлуцкая О.И.* Восстановление дефектов кожи у больных ладонно-подошвенным псориазом с помощью нового биопластического материала «Гиаматрикс» / О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Рахматуллин, Л.Р. Адельшина, С.Н. Летута // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2011. – № 4. – С. 52–54.
25. *Бурлуцкая О.* Комплексная косметическая композиция «Гиалуроновая кислота + матричные пептиды» / О. Бурлуцкая, Р. Рахматуллин // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2011. – № 4. – С. 41–44.
26. *Бурлуцкая О.И.* Восстановление ногтевой пластины с помощью гиалуроновой кислоты, обогащенной микроэлементным комплексом / О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Рахматуллин, Н.П. Колесова, Т.И. Бурцева // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2011. – № 5. – С. 33–35.
27. *Бурлуцкая О.И.* Применение косметического средства «Гиаматрикс» в сочетании с лазеротерапией для стимулирования роста волос / О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Рахматуллин // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2011. – № 6. – С. 32–33.

28. *Забиров Р.А.* Новые биопластические материалы и их применение в оториноларингологии / Р.А. Забиров, В.Н. Щетинин, М.И. Аникин, Р.Р. Рахматуллин, С.М. Гарифзянова, С.А. Грязнов, Ю.А. Кашина // Бас, Мойын Хирургиясы. – 2011. – № 1–2. – С. 105–106.

29. *Акимов А.В.* Перспективы применения биопластических материалов в ринохирургиии / А.В. Акимов, Р.А. Забиров, Р.Р. Рахматуллин, М.В. Григорьева // Российская оториноларингология. – 2011. – Т. 53. – № 4. – С. 10–13.

30. ***Рахматуллин Р.Р.*** Разработка наноструктурированного биопластического материала «Гиаматрикс» для ото- и ринохирургии / Р.Р. Рахматуллин, Р.А. Забиров, А.В. Акимов, С.М. Гарифзянова // Российская оториноларингология. – 2011. – Т. 53. – № 4. – С. 128–131.

31. *Забиров Р.А.* Использование новых биопластических материалов в клинической практике / Р.А. Забиров, Р.Р. Рахматуллин, В.Н. Щетинин, С.М. Гарифзянова, С.А. Грязнов // Российская оториноларингология. – 2011. – Т. 53. – № 4. – С. 77–85.

32. *Перова Н.В.* Изучение таксиса клеток на поверхности искусственной барабанной перепонки / Н.В. Перова, Р.Р. Рахматуллин // Технология живых систем. – 2012. – Т. 9. – № 7. – С. 11–13.

33. ***Рахматуллин Р.Р.*** К вопросу о биологической совместимости современного наноструктурированного биопластического материала «Гиаматрикс» на примере мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток / Р.Р. Рахматуллин, Н.В. Перова, О.И. Бурлуцкая // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 12. – С. 55–58.

34. *Адельшин А.И.* Нативные матриксы для создания живого эквивалента кожи / А.И. Адельшин, Р.Р. Рахматуллин, Т.И. Бурцева, О.И. Бурлуцкая // Морфологические ведомости. – 2013. – № 3. – С. 4–8.

35. *Гильмутдинова И.Р.* Исследование эффективности применения биопластического материала «Гиаматрикс» при ожогах 3Б степени в эксперименте / И.Р. Гильмутдинова, Л.Т. Волова, В.В. Болтовская, И.Ф. Нефедова, Р.Р. Рахматуллин // Морфологические ведомости. – 2013. – № 3. – С. 28–31.

36. *Зиновьев Е.В.* Механотопография и биологические свойства гистоэквивалент-биопластического материала на основе гидроколлоида гиалуроновой кислоты / Е.В. Зиновьев, Р.Р. Рахматуллин, К.Ф. Османов, К.К. Жилин, Ю.В. Нестеров, Д.К. Якимов // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2013. – № 4 (44). – С. 200–204.

37. *Зиновьев Е.В.* Биопластические дерматотерапевтические системы на основе гидроколлоида гиалуроновой кислоты и пептидного комплекса / Е.В. Зиновьев, Р.Р. Рахматуллин, К.Ф. Османов, И.А. Алмазов, А.А. Сулица // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – № 1 (45). – С. 147–151.

38. *Зиновьев Е.В.* Возможности биопластики трофических язв гистоэквивалент-биопластическим материалом на основе гидроколлоида гиалуроновой кислоты / Е.В. Зиновьев, А.М. Кисленко, К.Г. Сивожелезов, И.М. Сулейманов, С.А. Швецов, Р.Р. Рахматуллин, К.Ф. Османов // Научно-практический журнал «Хирург». – 2014. – № 4. – С. 14–21.

39. *Бурлуцкая О.И.* Деструктурированная гиалуроновая кислота и пептидный комплекс: возможности anti-age терапии / О.И. Бурлуцкая, Р.Р. Рахматуллин, Т.И. Бурцева // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2014. – № 2. – С. 47–51.

Монография

Забиров Р.А. Пластика дефектов барабанной перепонки биопластическим материалом «Гиаматрикс» / Р.А. Забиров, Р.Р. Рахматуллин, С.М. Каркаева. – Оренбург: ДИМУР, 2013. – 144 с.

Патенты

1. Патент РФ № 2367476 от 21.03.2008 г. Биопластический материал.
2. Патент РФ № 2425694 от 19.08.2011 г. Наноструктурированный биопластический материал.
3. Патент РФ № 2418067 от 10.05.2011 г. Способ культивирования клеток.
4. Патент РФ № 2462255 от 23.06.2011 г. Органоспецифический регенерат GI.
5. Патент РФ № 2458709 от 28.12.2012 г. Биопластический материал.
6. Патент РФ № 2481127 от 21.02.2012 г. Микро-наноструктурированный биопластический материал.
7. Патент РФ № 2513838 от 09.01.2014 г. Гистоэквивалент-биопластический материал.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСМ – атомно-силовой микроскоп
ВБНК – варикозная болезнь нижних конечностей
ГК – гиалуроновая кислота
ИК – инфракрасные спектры
МСКЖТ – мезенхимные стромальные клетки жировой ткани
НПВО – нарушенное полное внутреннее отражение
ПТФБ – посттромбофлебическая болезнь
УФ – ультрафиолетовое излучение
ФЧ – фибробласты человека
ЭКЦ – эпидермальные кератиноциты

АВТОРЕФЕРАТЫ ДИССЕРТАЦИЙ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Быков Илья Викторович

ВСПОМОГАТЕЛЬНОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ НА БАЗЕ ОСЕВЫХ НАСОСОВ (МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ УПРАВЛЕНИЯ)

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Москва – 2014

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

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор **Иткин Георгий Пинкусович**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС) являются ведущей причиной инвалидизации и смертности среди взрослого населения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), число смертельных исходов при данной патологии прогнозируется с 17 млн в 2008 г. до 30 млн к 2030 г.

Основным и наиболее эффективным методом лечения для пациентов, страдающих наиболее тяжелыми формами сердечной недостаточности (ТФСН) в терминальной стадии, является трансплантация донорского сердца. В ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России в 2013 г. были проведены 102 трансплантации сердца, при минимальной потребности в стране не менее тысячи пересадок.

Методы механической поддержки кровообращения (МПК) для лечения пациентов с ТФСН в последнее десятилетие стали одним из наиболее эффективных средств помощи пораженному миокарду и приняты в качестве стандартной терапии во многих мировых центрах. В нашей стране использование систем МПК ограничено в основном высокой стоимостью данных систем. Однако в последние годы успешно развивается программа создания отечественного аппарата АВК-Н для длительной поддержки кровообращения на базе имплантируемого осевого насоса (ИОН). Предварительные эксперименты на животных с выживаемостью 60–112 дней показали высокую надежность аппарата и возможность его клинического применения. В июне 2012 г. была проведена первая апробация аппарата в клинике у пациента с тяжелой формой дилатационной кардиомиопатии. Пациент был выписан из клиники со значительным улучшением органных функций, что позволило ему вести активный образ жизни. Через 9 мес. использования аппарата пациенту было успешно трансплантировано донорское сердце.

Несмотря на первые успехи, до сих пор остаются малоизученными многие вопросы применения систем вспомогательного кровообращения (СВК), связанные с большим многообразием форм хронической сердечной патологии. Одним из наиболее важных вопросов с точки зрения уменьшения рисков применения СВК является оптимизация выбора пациентов для проведения данной операции на основании предварительного моделирования условий, возникающих при подключении имплантируемого насоса к ССС и определения исходных режимов его работы. На данный момент возможности предварительной оценки рисков применения СВК с точки зрения адекватности поддержки кровообращения достаточно ограничены. Одной из возможных причин этого является отсутствие экспериментальных исследований взаимодействия ССС и ИОН в условиях моделирования ТФСН, включающей как уменьшение сократительной способности миокарда, так и ряд сопутствующих заболеваний, таких, например, как пороки клапанов сердца. Работы по данному направлению крайне редки, что связано с трудностями воспроизведения данных патологий в эксперименте на животных, повторяемости результатов моделирования и чрезвычайной дороговизной этих исследований.

Цель исследования заключается в создании методов и средств оценки взаимодействия ССС с насосом непрерывного потока (ННП) в условиях изменения сократимости миокарда, клапанной патологии, а также выбора оптимального режима работы ННП на основе построения математической модели (ММ) этого взаимодействия.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи исследования**:

1. С использованием методов математического моделирования разработать модель биотехнической системы, включающей в себя ССС и СВК.

2. Определить характеристики насосов непрерывного потока крови во всем динамическом диапазоне пост- и преднагрузок.
3. Разработать методику косвенного определения выходных параметров насоса-расхода и напора с использованием управляющих ННП сигналов.
4. Провести на ММ исследования по оценке взаимодействия ССС с ННП в условиях снижения сократимости миокарда, клапанных патологий и определить алгоритм прогнозирования эффективности применения СВК при выборе пациента с ТФСН.
5. Провести анализ адекватности моделируемых процессов на основе сравнения результатов моделирования ССС с известными усредненными показателями гемодинамики человека.
6. Разработать на основании полученных данных алгоритм определения неблагоприятных режимов взаимодействия ССС и ННП (постоянное закрытие аортального клапана, присасывание входной канюли насоса и режим обратного кровотока через насос). Оценить влияние недостаточности митрального клапана при работе ННП.
7. Разработать требования к расходно-напорным характеристикам (РНХ) ННП с учетом динамического диапазона их функционирования, в частности при правожелудочковом обходе. С использованием ММ определить режимы работы правого и левого насосов при бивентрикулярном обходе.

Методы исследований

Поставленные задачи решались с использованием методов математического моделирования сложных биотехнических систем, данных, полученных на гидродинамических стендах и в экспериментах на животных с применением методов цифровой обработки.

Научная новизна исследования

Синтезирована комплексная математическая модель, описывающая взаимодействие двухкруговой ССС и ННП с возможностью изменения основных параметров сердца от нормы к патологии, включая моделирование клапанных пороков, объемных показателей желудочков и коронарного кровотока. Определена общая стратегия управления ННП на всех этапах применения системы СВК с использованием методов математического моделирования.

Разработаны принципы получения требуемых характеристик ННП с точки зрения наибольшей эффективности во всем динамическом диапазоне их применения. Разработан метод косвенной оценки расхода и напора ННП (для аппарата АВК-Н), на базе которого реализован метод детекции стагнации кровотока за аортальным клапаном и обратного кровотока через ННП.

Предмет исследования

Математическая модель, отражающая взаимодействие биотехнической системы ННП и ССС в широком диапазоне изменения параметров сердца от нормы к патологии.

Результаты проведенного исследования внедрены:

- при разработке методов и средств для оценки взаимодействия ССС с ННП в экспериментальной и клинической практике ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России;
- при разработке конструкций ИОН в ООО «ДОНА-М»;
- при разработке систем управления ИОН и блока косвенных измерений в ООО «БИОСОФТ-М»;
- для проведения лабораторных работ в ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет (медицинский институт)».

Апробация диссертации

Основные положения диссертации доложены: на VI Всероссийском съезде трансплантологов, 24–27 сентября, Москва, 2012; 1-й Русско-Германской конференции биомедицинской инженерии, 23–26 октября, Ганновер, 2013; XIX Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов России, 24–27 ноября, Москва, 2013; VII Всероссийском съезде трансплантологов, 28–30 мая, Москва, 2014.

Апробация диссертации состоялась 11 июня 2014 г. на заседании объединенной научной конференции клинических, экспериментальных отделений и лабораторий ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 работ, из них 2 в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК; получено свидетельство о регистрации программы для ЭВМ (№ 2014615629 от 29.05.2014).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста, включая библиографический перечень, титульную страницу, и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Библиографический указатель включает 105 источников (50 – на русском языке и 55 – на иностранных языках). Работа содержит 55 графиков, диаграмм и рисунков и 7 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Вспомогательное кровообращение как средство терапии на терминальных стадиях сердечной недостаточности

СВК являются эффективным средством лечения сердечной недостаточности. Сердечная недостаточность (СН) является синдромом, который выражается в ослабевании насосной функции сердца. По локализации СН выделяются три основных типа: 1) левожелудочковая СН, приводящая к застою крови в малом круге кровообращения, ухудшению перфузии жизненно важных органов; 2) правожелудочковая СН, приводящая к застою крови в большом круге кровообращения; 3) двусторонняя СН, которая подразумевает дисфункцию обоих желудочков сердца. Перечисленные типы СН нередко сопровождаются сопутствующими пороками клапанов (стеноз аортального, недостаточность митрального клапанов). Применение средств МПК подразумевает использование большого разнообразия методов нормализации гемодинамики при помощи различных экстра- и интракорпоральных механических устройств. Все современные МПК различаются как по методам подключения к ССС, так и по типу воздействия на миокард. Основа применения практически всех методов МПК заключается в разгрузке миокарда (за счет снижении противодавления сердечному выбросу или за счет снижения объема перемещаемой миокардом крови), нормализации коронарного и системного кровотока.

Методы обхода левого желудочка (ОЛЖ) используются для снижения механической нагрузки на миокард и чаще всего используются при наличии у пациента изолированной левожелудочковой недостаточности. Основными предикторами применения ОЛЖ служат: систолическое АД < 80 мм рт. ст., среднее АД < 60 мм рт. ст., сердечный индекс < 2 л/мин/м^2, среднее давление в левом предсердии >25 мм рт. ст., диурез < 20 мл/ч и инвариантность к применению инотропной терапии.

Можно выделить несколько основных направлений применения ЛЖО при СН.

1. В качестве «моста» при последующей трансплантации сердца (bridge to transplant – BTT). При этом СВК используются у пациентов с терминальной стадией ТФСН, для продления жизни в ожидании донорского органа. При этом применение СВК нормализует перфузию жизненно важных органов, что благоприятно сказывается на эффективности работы пересаженного сердца.
2. Имплантация вспомогательных насосов на постоянной основе (destination therapy – DT). Применяется в случаях, когда пациент по каким-либо причинам не может быть включен в лист ожидания донорского органа (возраст, хронические заболевания, религиозные убеждения).

3. Временная имплантация насоса до восстановления миокарда (bridge to recovery – BTR). С успехом применяется в основном при острых заболеваниях сердца (после перенесенных обширных инфарктов миокарда, миокардита, при невозможности восстановления функции миокарда после операций на открытом сердце и т. п.)

Первоначально разработки СВК предполагали в основном использование метода ЛЖО у пациентов первой группы в случаях, когда пораженный миокард невозможно восстановить медикаментозными средствами и единственным способом лечения таких пациентов является трансплантация сердца. Однако в последние пять лет имплантация СВК на постоянной основе (DT) по объему клинического использования не уступает объему операций трансплантации сердца и превышает количество операций по двухэтапной замене сердца (BTT). Это связано с прогрессом в разработке СВК повышенной надежности и ресурса и дефицитом донорских органов. К сожалению, восстановление миокарда (BTR) при хронических ТФСН происходит достаточно редко (5% случаев) и для повышения эффективности метода требует достаточно сложной и дорогостоящей системы медикаментозной терапии и мониторинга.

В последние годы наиболее широко используемыми в клинической практике имплантируемыми насосами СВК (более 95%) являются ННП (осевые или центрифужные), которые по сравнению с пульсирующими насосами имеют значительно лучшие массогабаритные и энергетические показатели, а главное, имеют значительно больший ресурс и надежность.

Основные требования к имплантируемым ННП:

1) обеспечение требуемого расхода насоса в широком диапазоне изменения перепада давления «вход-выход»;
2) обеспечение минимальной травмы крови;
3) низкая вероятность тромбообразования при относительно умеренной антитромбогенной терапии (соответствующей антитромбогенной терапии при протезировании механических клапанов сердца).

Статистика применения СВК в клинической практике в последние годы отражает тенденцию значительного ежегодного увеличения числа пациентов с имплантированными устройствами ЛЖО (УЛЖО), что свидетельствует об успешности применения данного метода лечения ХСН. При этом летальность этой группы пациентов снизилась за последние 5 лет с 42 до 17%. Так как использование ЛЖО при терминальных ТФСН является единственной альтернативой трансплантации сердца, то задача дальнейшего внедрения данной технологии требует создания дополнительных методов и средств для снижения рисков использования этих систем в условиях как изолированных, так и сочетанных патологий ССС в предоперационный период. Трудности экспериментального моделирования клинических патологий ТФСН не позволяют провести полноценную оценку эффективности СВК в эксперименте на животных из-за плохой

воспроизводимости этих патологий и чрезвычайно высокой стоимости таких экспериментов. Поэтому единственным полноценным инструментом для решения этой задачи является использование возможностей современных вычислительных машин с применением методов математического моделирования (ММ) ТФСН на фоне применения СВК.

Любая ММ является упрощением реально существующей системы, поэтому вне зависимости от того, какая эквивалентная схема замещения ССС выбрана, структуру и количество входящих в нее элементов определяет цель исследования. Сюда относится детализация описания отдельных функциональных элементов модели, используемых параметров, а также тип и объем входных характеристик (к примеру, жесткости стенок желудочков сердца, показателей клапанных пороков, объемных характеристик желудочков и т. д.). Поэтому в процессе разработки и клинической апробации отечественной СВК АВК-Н возникла необходимость создания ММ взаимодействия ССС и ННП, с помощью которой будет решена основная принципиальная задача – прогнозирование эффективности работы ННП в условиях патологической ССС, а также определение оптимальной стратегии управления, обеспечивающей высокий уровень качества жизни пациента с имплантированной СВК в условиях покоя и умеренной физической нагрузки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основной целью разработки ММ является исследование процессов взаимодействия биотехнической системы ССС – ННП при изменении параметров ССС от нормы к патологии (сердечная недостаточность, клапанные пороки и др.) и оценкой в новых условиях основных параметров гемодинамики – минутного объема кровообращения (МОК), ударного объема (УО), параметров давления, объемных показателей желудочков сердца и пр. Поставленные перед исследованием задачи можно условно разделить на клинические, решение которых позволяет прогнозировать эффективность использования СВК, определять стратегию управления ННП и задачи вновь проектируемых СВК, решение которых будет способствовать оптимизации системы управления насосом и уточнению требований к РНХ новых конструкций насосов, для расширенного диапазона применения СВК (правожелудочковый обход, бивентрикулярный обход).

Так как ССС является сложнейшей многоконтурной, многосвязанной системой транспорта крови, обеспечивающей необходимый метаболизм в органах и тканях, и имеет сложную систему обратных связей, работа которых до сих пор остается достаточно малоизученной, то с учетом поставленных задач нами рассматриваются только быстрые процессы регуляции в ССС. Такой подход позволяет значительно упростить мо-

дель ССС и в то же время сохранить основные принципы регуляции сердечного выброса (механизм Франка–Старлинга, закон Анрепа) и реализовать верификацию модели и объекта.

Структура математической модели (с точки зрения кровотока) должна быть максимально приближена к ССС – включать в себя 2 круга кровообращения, четырехкамерное сердце с клапанами, а также УЛЖО и УПЖО, подключенные по классической схеме «ЛЖ – аорта» и «ПЖ – легочная артерия» соответственно. При синтезе ММ были приняты следующие допущения:

- параметры модели сосредоточенные;
- кровь рассматривается как Ньютоновская жидкость с постоянной вязкостью;
- несколько обобщенных резервуаров объединяют в себе основные отделы ССС (аортальные, венозные и капиллярные резервуары большого и малого кругов кровообращения);
- время открытия и закрытия клапанов – бесконечно малая величина;
- зависимость сердечного выброса по правому и левому желудочку сердца согласуется с законом Франка–Старлинга и Анрепа.

Выбранная структурная схема ММ (рис. 1) имеет большой и малый круги кровообращения, состоящие из обобщенных артериальных, капиллярных и венозных резервуаров, замыкающихся на четырехкамерное сердце. В соответствии с традиционной схемой УЛЖО и УПЖО подключены в обход клапанов. Данные элементы структуры могут реализовывать работу любого по типу ННП (центробежный, осевой и т. п.).

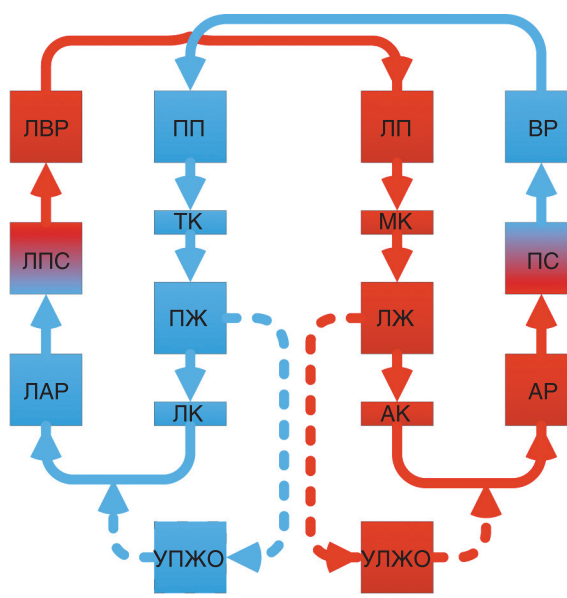


Рис. 1. **Структура синтезируемой модели**

Описание использованных методов при реализации модели сердечно-сосудистой системы

Для реализации выбранной структуры ММ был выбран пакет Matlab Simulink. В качестве метода описания структурных единиц модели было решено отказаться от электрической схемы замещения, так как она требует включения большого числа взаимно не связанных узлов, и использовать замкнутую систему дифференциальных уравнений.

Все блоки, входящие в структуру модели, можно условно разделить на следующие функциональные группы:

- блоки вычисления жесткости стенок правого и левого желудочков (двойные функции Хилла);
- блоки сравнения (клапаны сердца, с учетом возможности введения параметров стеноза и регургитации);
- резистивные и нерезистивные резервуары (венозный, капиллярный и артериальный резервуары большого и малого кругов кровообращения);
- блоки расчета расхода механической составляющей СВК (насоса).

Общая картина параметрической зависимости блоков модели ССС представлена на рис. 2 и включает в себя:

- выходные параметры давления моделей обобщенных резервуаров:
  - P_A – давление в артериальном резервуаре, мм рт. ст.;
  - P_V – давление в венозном резервуаре, мм рт. ст.;
  - P_PA – давление в легочном артериальном резервуаре, мм рт. ст.;
  - P_PV – давление в легочном венозном резервуаре, мм рт. ст.;
- выходные параметры кровотока моделей обобщенных резервуаров и сердца:
  - F_LV_A – кровоток из ЛЖ в артериальный резервуар, мл/с;
  - F_A_P – кровоток из артериального резервуара в периферический, мл/с;
  - F_P_V – кровоток из периферического резервуара в венозный, мл/с;
  - F_V_RV – кровоток из венозного резервуара в ПЖ (через дополнительное сопротивление – предсердие), мл/с;
  - F_RV_PA – кровоток из ПЖ в легочный артериальный резервуар, мл/с;
  - F_PA_L – кровоток из легочного артериального резервуара в легкие, мл/с;
  - F_L_PV – кровоток из легких в легочный венозный резервуар, мл/с;
  - F_PV_LV – кровоток из легочного венозного резервуара в ЛЖ (через дополнительное сопротивление – предсердие), мл/с.

С точки зрения построения математической модели взаимодействия ССС и СВК биотехническая система представляет собой насос, расход

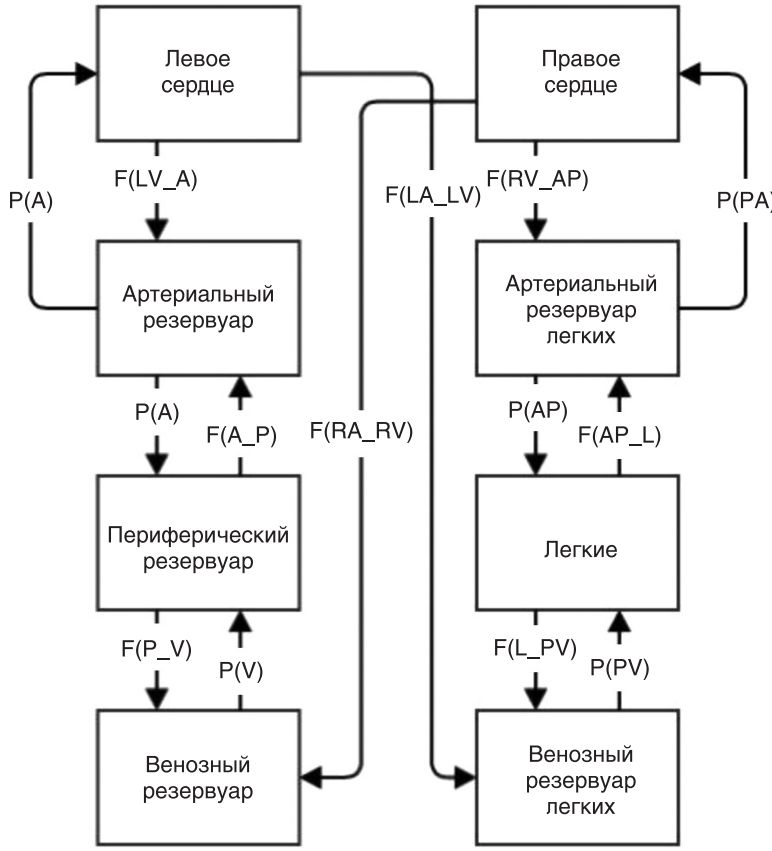


Рис. 2. **Параметрическая взаимосвязь блоков модели ССС**

которого зависит от перепада давлений на его выходе и входе и частоты вращения рабочего колеса. Данная зависимость представляет собой семейство кривых, соответствующих той или иной заданной скорости вращения рабочего колеса ННП. Таким образом, расход насоса можно представить как функцию трех параметров – давления на выходе (артериальный резервуар), давления на входе (желудочек сердца) и скорости вращения рабочего колеса (РК) (константа). Данная функция, или расходно-напорная характеристика (РНХ) насоса, является нелинейной, и для введения уравнения насоса в модель ее можно получить на физической модели – гидродинамическом стенде, при снятии характеристик конкретных ННП. В нашей работе мы исследовали характеристики отечественных ИОН совместной разработки ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, «Национальный исследовательский университет «Московский институт электронной техники», ООО «БИОСОФТ-М», ООО «ДОНА-М».

Методика получения расходно-напорных характеристик ИОН

Для проведения исследований технических параметров ИОН использовался испытательный гидродинамический стенд, структура которого представлена на рис. 3.

Рис. 3. **Структурная схема испытательного стенда**

Стенд предназначен для определения гидродинамических и энергетических параметров ИОН. В его состав входят:

- имплантируемый насос постоянного потока;
- гидродинамический контур;
- измерительные инструменты (измеритель давления, измеритель расхода);
- регистрирующая аппаратура.

Задача исследования РНХ состоит в определении функции перепада давления и объемного расхода насоса в зависимости от гидравлического сопротивления при постоянных частотах вращения рабочего колеса. Испытание проводится для значений частот вращения в диапазоне 5000–9000 об./мин с шагом 1000 об./мин. При каждой заданной частоте вращения изменяется гидравлическое сопротивление для получения с определенной дискретностью (1,0 л/мин) значений расхода. При этом определяется соответствующий перепад давления на насосе. По этим

данным для каждого значения заданной частоты вращения строится кривая зависимости расхода от перепада давлений. Для простоты использования полученных данных в математической модели рассчитанное значение перепада давлений приводится в мм рт. ст. Полученные характеристики аппроксимируются нелинейными функциями в интервалах линейной дискретности расхода, и поэтому достаточно полно отражают работу насоса.

Методика косвенного измерения производительности насоса по расходу

Косвенный метод измерения расхода насоса представляет в настоящее время большой интерес в связи со сложностью прямых измерений расхода крови и перепада давлений в живом организме. Непрерывный мониторинг данных параметров СВК позволяет повысить эффективность применения МПК. Во-первых, за счет исключения дополнительного измерительного оборудования и отсутствия необходимости чрескожного выведения соединителей датчиков. Во-вторых, за счет разработки адаптивных систем управления ННП.

Область применения полученных результатов – проведение испытаний на стенде и лабораторных животных в целях разработки методики экспериментальной и клинической апробации имплантируемых осевых насосов и создания научно-технического задела для будущих разработок.

Расчет оценочного значения расхода $F_{ср}$ жидкости через насос и перепада давления на насосе $\Delta P_{ННП}$ заключается в получении зависимостей вида (1), (2):

$$F_{ср} = K_1 + K_2\omega_{ср} + K_3\omega^2_{ср} + K_4W_{ср} + K_5W^2_{ср} + K_6W^3_{ср}, \quad (1)$$

$$\Delta P_{ННП} = C_1\omega^2 + C_2F\omega, \quad (2)$$

где $\omega_{ср}$ – средняя частота вращения РК насоса, об./мин; $W_{ср}$ – средняя потребляемая насосом мощность, Вт; ω – мгновенное значение частоты вращения РК насоса, об./мин; K_1, K_2, K_3, K_4, K_5, K_6 – постоянные величины; C_1, C_2 – постоянные величины.

Таким образом, расчет расхода и перепада давления производится с использованием информации с блока управления ННП – значения частоты вращения РК насоса и потребляемой мощности. Расчет постоянных величин приведенных соотношений производится после проведения серии стендовых экспериментов (аналог метода получения РНХ) и математической обработки полученных данных (расход, напор, мощность, частота вращения РК насоса). После получения расчетных значений постоянных величин произведена оценка погрешности путем сравнения рассчитанного значения с измеренным.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты стендовых исследований характеристик насоса

По описанной методике получения РНХ ННП были получены характеристики нескольких моделей насосов: ВИШ 7-03 – насос № 1, ВИШ 7-03-2 – насос № 2, ВИШ 7-01 – насос № 3. РНХ получены с использованием двух рабочих жидкостей – 0,9% физиологическим раствором хлорида натрия и 40% раствором глицерина. Для указанных трех насосов характер полученных характеристик практически идентичен. Так как погрешность измерения расхода и давления является достаточно низкой (не более 3%), то для повышения достоверности полученных РНХ использовали многократные снятия характеристик (n = 8) при различных скоростях вращения ротора (6000 об./мин, 7000 об./мин, 8000 об./мин) на разных насосах одной конструкции (насосы № 1–3). Полученные результаты показали расхождение данных не более чем на 5–7%.

Так как взаимодействие ННП с реальной ССС отличается от его работы в данном описанном стенде, прежде всего характером потока в реальной системе, связанным с пульсациями на входе и выходе насоса, то необходимо дополнительно уточнить достоверность полученных данных.

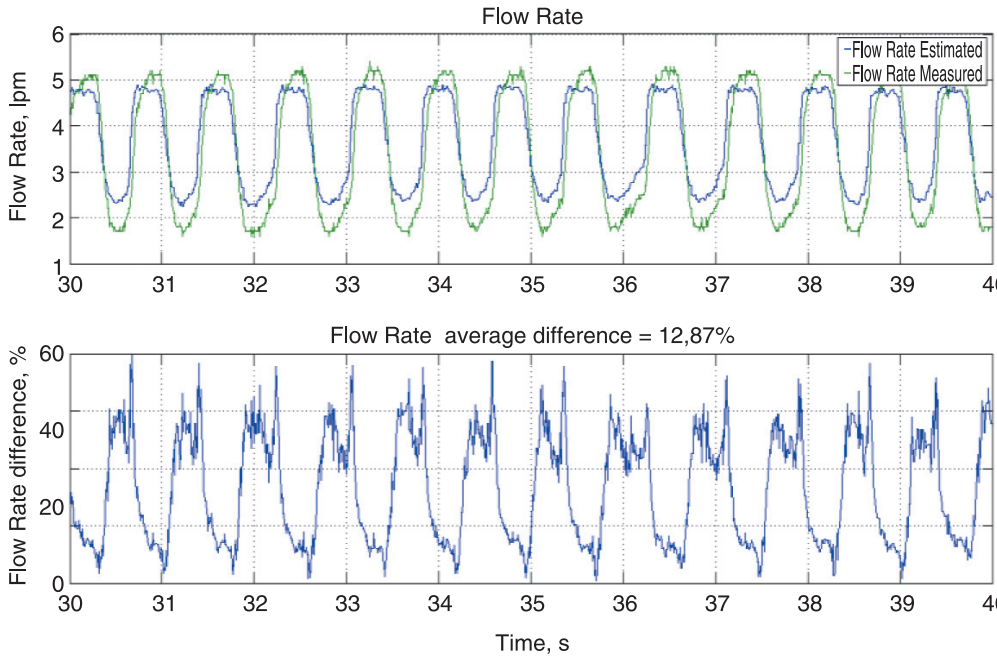


Рис. 4. **Оценка соответствия расчетного значения расхода фактически измеренному**

С этой целью проводили синхронную регистрацию давления в ЛЖ и в аорте во время работы ННП в эксперименте на животном. Полученные данные были проанализированы с использованием программного пакета Matlab и его среды моделирования Simulink.

В результате проведенного исследования были получены графики (рис. 4), отражающие кривые расхода насоса крови, полученные на модели и в эксперименте при заданной частоте вращения рабочего колеса 6000 об./мин (другие режимы не рассматривались ввиду показанной выше повторяемости результатов). На верхнем графике синей линией изображена кривая расчетного значения расхода, зеленой – практически измеренного. На нижнем графике приведена кривая их рассогласования (ошибка) в каждый момент времени.

Среднее за период значение ошибки составляет приблизительно 9%, что для метода косвенной оценки параметров является достаточно хорошим результатом. Также необходимо учитывать, что входные данные при измерении не фильтровались от помех, которые, как видно из графика, вносят достаточно большую составляющую при измерении расхода крови.

Косвенный метод оценки производительности насоса

К результатам стендовых исследований, по которым определяются постоянные величины соотношений расхода насоса (1) и перепада давления (2), следует отнести построение двух типов зависимостей – зависимость потребляемого насосом тока от расхода и зависимость напора от расхода (в данном случае – РНХ). Математическая обработка данных двух зависимостей позволила рассчитать значения постоянных величин K_1, K_2, K_3, K_4, K_5, K_6, C_1, C_2. В результате регрессионного анализа мы получили: $K_1 = –15{,}635$, $K_2 = 4{,}416E – 3$, $K_3 = –5{,}8E – 8$, $K_4 = –3{,}0886$, $K_5 = 0{,}1778$, $K_6 = –4{,}387E – 3$. Рассчитанные значения расхода с использованием соотношения (1) и полученных коэффициентов отличаются от экспериментально измеренных не более чем на 0,3 л/мин на всем диапазоне и не более чем на 10% при расходе более 2,5 л/мин.

Полученные постоянные величины для соотношения (2): $C_1 = 2{,}651E – 6$, $C_2 = –3{,}42E – 3$. Расчетное значение перепада давления на насосе во всем диапазоне рабочих нагрузок и скоростей вращения ротора насоса отличается от фактически измеренного не более чем на 10 мм рт. ст. и на 10%. Верификация полученной методики оценки расхода и напора произведена по данным 10 экспериментов на телятах (рис. 5).

Проведено сравнение рассчитанного и измеренного значений расхода для скоростей номинального диапазона частот вращения РК насоса от 6000 до 10 000 об./мин и посчитана относительная погрешность, которая не превышает 10% во всем диапазоне, а среднее ее значение по трем эк-

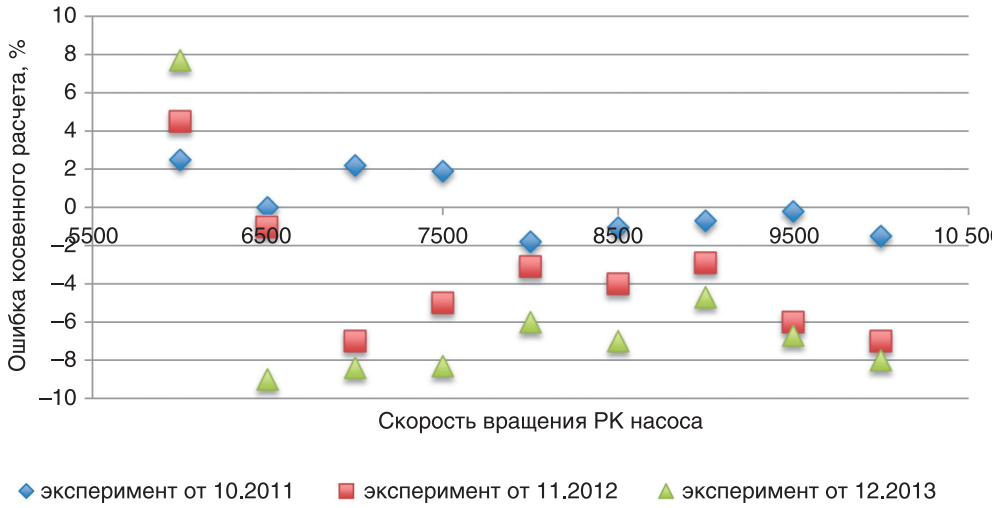


Рис. 5. **Результаты верификации косвенного метода оценки расхода с экспериментальными данными**

сперимент в диапазоне 7000–8500 об./мин составляет ≈ 4%. Полученные значения погрешности косвенных измерений вполне укладываются в принятые нормативы для косвенных измерений данных параметров в насосах непульсирующего потока.

Результаты моделирования ССС в состоянии физиологической нормы

Под состоянием физиологической нормы понимается организм «среднего» человека, для которого приведены следующие основные показатели гемодинамики.

- Ударный объем (УО) крови в покое равен 60–80 мл. УО для ЛЖ и ПЖ считаются практически равными за исключением бронхиального сброса, который в норме составляет в среднем 300–500 мл/мин.
- Минутный объем кровообращения. В покое составляет 4,5–5,5 л/мин и может быть рассчитан как МОК = УО × ЧСС.
- Конечно-диастолический объем (КДО) и конечно-систолический объем (КСО). КДО для ЛЖ и ПЖ отличаются – у ПЖ КДО в норме приблизительно в 1,5 раза выше, чем у ЛЖ. В рамках построения математической модели ССС данные параметры являются определяющими, так как они напрямую связаны с законом Франка–Старлинга, а также могут быть использованы для моделирования тяжелых форм сердечной недостаточности (дилатационной кардиомиопатии).

– Параметры давления в левом и правом кругах кровообращения: Рлж = 125/4 мм рт. ст., Рпж = 25/3 мм рт. ст., Ра = 120/80 мм рт. ст., Рла = 24/11 мм рт. ст., Рв = Рлв = 7 мм рт. ст.

Сравнение основных параметров гемодинамики ССС на модели с усредненными параметрами, взятыми из литературных источников, показали рассогласование, не превышающее 5–7%.

Таким образом, синтезированная модель достаточно точно отражает работу ССС с точки зрения показателей гемодинамики и может быть использована для анализа применения СВК на базе ННП.

Результаты моделирования левожелудочковой недостаточности

Одной из основных задач, поставленных перед исследованием, является предоперационная оценка рисков применения левожелудочкового обхода с помощью ННП. Данная оценка может быть дана при интеграции в ММ показателей гемодинамики конкретного пациента, с последующим моделированием ЛЖО и предоперационным определением реакции ССС данного пациента на подключение ННП. При моделировании ХСН мы руководствовались критическим снижением АД, УО, повышением ЦВД, КДД и ДЗЛА, а также общей гипертрофией ЛЖ (табл.).

Таблица

Параметры гемодинамики при ХСН

Параметр	Значение
КДО ЛЖ	≥ 150 мл
УО	≤ 50 мм рт. ст.
МОК	≤ 3 л/мин
КДД ЛЖ	≥ 15 мм рт. ст.
АД	≤ 85 мм рт. ст.
ЦВД	≥ 13 мм рт. ст.
ДЗЛА	≥ 20 мм рт. ст.

Основные переменные ССС при выраженной СН на модели соответствуют средним значениям, взятым из литературных источников. Данные давления в большом и малом круге кровообращения отражают реальный сдвиг основных показателей ССС в сторону моделируемой СН. Отражено повышение нагрузки на правые отделы сердца из-за увеличения КСО ЛЖ, что приводит к повышению ДЗЛА и увеличению постнагрузки на ПЖ.

При моделировании СН одним из наиболее информативных параметров с точки зрения прогнозирования эффективности использования ЛЖО

является значение градиента давления ЛЖ–аорта, так как последний при заданной частоте вращения ротора определяет расход насоса. В полученной модели СН значение среднего градиента давления ЛЖ–аорта составляет 37 мм рт. ст., а максимальное значение не превышает 70 мм рт. ст.

Рассмотренные характеристики имплантируемого ННП даже при минимальной скорости вращения РК, составляющей 5000 об./мин, при заданных значениях перепада давления обеспечивают минимальный расход через насос (0,5 л/мин). Такой расход насоса необходим в период перехода от искусственного кровообращения к рабочему режиму ННП. Данное значение расхода является достаточным для обеспечения заполнения насоса и удаления воздуха на этапе имплантации насоса в операционной. Последующее увеличение скорости до 7000 об./мин обеспечивает расход через насос до 4–5 л/мин, при этом имеется возможность как увеличения, так и снижения данного показателя, что крайне важно при принятии решения о корректировке расхода насоса по результатам плановых обследований и со слов пациента о самочувствии после выписки из стационара.

Системный кровоток на модели СН смоделированной патологической ССС до подключения насоса составлял ≈ 2,8 л/мин.

Моделирование левожелудочкового обхода

Общий системный кровоток при ЛЖО суммируется из собственного кровотока через аортальный клапан и кровотока через насос. При моделировании ЛЖО была отмечена разная степень снижения собственного сердечного выброса в аорту вплоть до полного отсутствия. Данный режим, по мнению многих авторов, является неблагоприятным, так как при этом аортальный клапан постоянно закрыт и в долгосрочном периоде это может привести к его дисфункции (срастанию створок) и образованию тромбов в области закрытых створок. Другим эффектом при работе насоса является снижение КДО и диастолического давления в ЛЖ, которое ретроградно передается на правые отделы сердца, снижая постнагрузку на ПЖ. При этом расчетный расход ННП является достаточным для преодоления периферического сопротивления большого круга кровообращения, и общая перфузия органов нормализуется. Одновременно отмечается снижение ЦВД, что с физиологической точки зрения приводит к нормализации портального давления и восстановлению функции печени и почек.

Основной задачей использования ЛЖО является «достаточность» поддержки системного кровотока. При разработке новых устройств ЛЖО в экспериментальной практике руководствуются достаточно упрощенными оценками таких параметров, как собственный кровоток через АК, давление в правых отделах сердца и т. д. Кроме того, в экспериментах на животных достаточно редко перед установкой СВК моделируется СН, из-

за достаточно высокой сложности реализации, отсутствия необходимой повторяемости и дороговизны. В связи с этим применение ММ является достаточно надежным методом проведения таких исследований.

Моделирование левожелудочкового обхода в модели СН производилось с использованием описанных РНХ насоса. Результаты, полученные при моделировании СН, определили условия, в которых функционирует ННП на всех этапах имплантации и в ближайший постоперационный период (при имплантации скорость вращения РК равна 5000 об./мин, для заполнения контура, с последующим увеличением скорости до 7000 об./мин для обеспечения МОК на уровне 5 л/мин). Результаты, отражающие работу УЛЖО в патологической ССС, представлены на рис. 6.

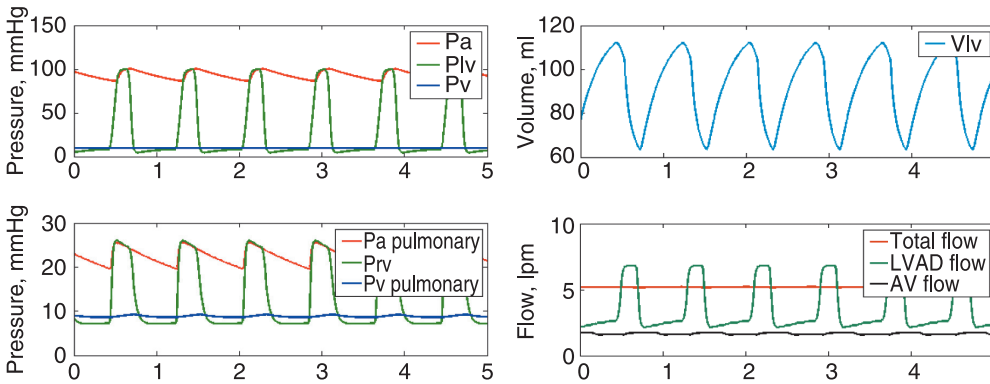


Рис. 6. **Результаты моделирования гемодинамики при левожелудочковом обходе**

Полученная картина функционирования ССС значительно отличается от «классической» нормы (без насоса), прежде всего уменьшением пульсового артериального давления. Если при СН оно составляет 30–50 мм рт. ст., то в условиях ЛЖО – 10–25 мм рт. ст. Это обусловлено тем, что после включения ЛЖО и разгрузки миокарда по объему собственный выброс ЛЖ снижается, а насос, работая в непульсирующем режиме, дополнительно «сглаживает» кривую АД за счет повышения диастолического давления в аорте. Тем не менее при этом повышается САД до значений порядка 90 мм рт. ст. Также стоит отметить снижение на 40% КДО ЛЖ. С другой стороны, полученные данные свидетельствуют о нормализации системного кровотока (до ≈5 л/мин). Стоит отметить, что при моделировании ЛЖО наблюдалось снижение потока крови через АК до значения 1,8 л/мин. Это может объясняться снижением диастолического наполнения желудочка и соответствующей реакцией механизма Франка–Старлинга. Тем не менее при малом выбросе крови через клапан АК продолжает функционировать.

Применительно к клинической практике использования СВК полученные результаты дают ответ на 2 важных вопроса: выбор первоначального режима работы насоса «в операционной», предполагающего запуск насоса при отсутствии обратного сброса крови через него, а также выход на дальнейший режим, обеспечивающий достаточный системный кровоток, при котором нормализуется перфузия жизненно важных органов, что в случае использовании применения СВК в качестве первого этапа трансплантации (ВТТ) является положительным фактором следующего этапа пересадки донорского сердца.

Таким образом, результаты моделирования СН и «предоперационного» определения оценки влияния на ССС работы ЛЖО могут быть использованы для оценки рисков имплантации насоса.

Оценка влияния недостаточности митрального клапана на условия механической поддержки кровообращения с использованием ННП

У пациентов с ХСН, как правило, нередко встречаются сопутствующие клапанные патологии, наиболее распространенными из которых являются стеноз аортального клапана (АК) и недостаточность митрального клапана. При использовании СВК часто возникает вопрос о необходимости предварительной хирургической корректировки данных клапанных пороков.

Моделирование ХСН с сочетанным стенозом АК показало, что в данных условиях повышается постнагрузка на ЛЖ, что приводит к снижению САД. Реконструкция аортального клапана или его замена на искусственный в большинстве случаев применения ЛЖО не проводится, что объясняется лучшими с точки зрения насоса условиями его функционирования за счет снижения аортального противодавления (на фоне стеноза АК). При этом оптимальный режим работы ИОН смещается в сторону пониженных значений скорости вращения РК.

Недостаточность митрального клапана (МК) иначе влияет на условия работы имплантируемого насоса. В систолу часть объема крови ЛЖ выбрасывается обратно в предсердие. Следовательно, для обеспечения нормального МОК необходима большая производительность ННП. Так как обратный сброс дополнительно увеличивает нагрузку на ПЖ, то необходимо провести оценку вероятности возникновения недостаточности ПЖ, исходя из которой принимается решение о коррекции недостаточности МК.

Для моделирования недостаточности МК при подключении ННП СВК в модель СН был введен параметр, отражающий данную патологию. Реализация в модели произведена путем введения отрицательной проводимости предсердие–желудочек, из-за снижения порога закрытия МК.

Результаты моделирования ЛЖО при различной степени недостаточности МК показали, что небольшая степень регургитации МК приводит к незначительному (около 0,7 л/мин) снижению расхода через насос. Дальнейшее увеличение степени недостаточности МК (вплоть до практически полного его разрушения) не вносит значительных изменений в производительность насоса, однако наблюдается снижение кровотока через аортальный клапан. Следовательно, необходима компенсация за счет повышения расхода ННП.

Таким образом, при выборе пациентов с ХСН, потенциально имеющих сочетанные клапанные патологии, крайне важно их учитывать, так как это напрямую влияет на выбор режима работы насоса, обеспечивающего нормальное качество жизни пациента.

Предоперационная оценка эффективности использования СВК

1. Совокупность рассмотренных результатов моделирования определяет стратегию решения основной задачи данного исследования – предоперационной оценки эффективности использования СВК и оптимизацию выбора пациентов.
2. Определение параметров гемодинамики пациента в клинике: измерение АД, ЦВД, КДД, КДО, МОК, ДЗЛА, а также диагностика клапанных пороков и их параметризация.
3. Моделирование индивидуальной СН с возможными сочетанными патологиями клапанов.
4. Определение ожидаемых условий функционирования имплантируемого насоса (измерение градиента давления ЛЖ–аорта).
5. По результатам п. 3 произвести выбор модели насоса на основании предварительно полученных РНХ, обеспечивающих нормализацию МОК, а также с учетом необходимого резерва насоса по расходу для возможной корректировки работы насоса в постоперационный период.
6. По результатам п. 4 определить минимальную скорость вращения РК насоса для обеспечения прямого потока (без обратного кровотока через насос) на этапе имплантации и определить номинальный режим работы для обеспечения МОК в пределах 5 л/мин.
7. Принятие решения об имплантации СВК по результатам моделирования ЛЖО. Если на основании результатов моделирования прогнозируется нормализация параметров гемодинамики – начать общую подготовку пациента к имплантации. Если моделирование не показало нормализации параметров гемодинамики, то пересмотреть пп. 4–5, либо из-за повышенных рисков принять решение об исключении пациента из возможных претендентов на операцию имплантации СВК.

Критические режимы взаимодействия ССС и ННП. Алгоритм оценки функционального состояния аортального клапана при МПК с использованием синтезированной модели

Оптимальная стратегия использования СВК подразумевает прежде всего обеспечение высокого качества жизни пациента с возможностью для него выполнять умеренную физическую нагрузку. Однако адаптация ССС пациента и нормализация гемодинамики происходят постепенно, и в ранний постоперационный период могут потребоваться корректировка режима работы ННП. Некорректно выставленное значение частоты вращения РК насоса может привести к критическим ситуациям. В частности, наиболее опасный критический режим работы насоса связан с вероятностью превышения частоты вращения ротора и может привести к присасыванию входной канюли насоса к стенке желудочка сердца, что может вызвать повреждение эндокардиальной поверхности желудочка и резкое снижение кровотока через насос. Данная проблема частично решается оптимизацией конструкции входной канюли и методами установки ее в полости желудочка сердца. Таким образом, верхний предел частоты вращения РК насоса для получения заданной величины расхода ННП может привести к двум критическим ситуациям: постоянному закрытию аортального клапана и присасыванию входной канюли. То есть при высоких значениях частоты вращения РК значительно повышается риск тромбообразования за АК, а отсутствие его функционирования может привести к срастанию створок. Нижний предел частоты вращения РК насоса определяется возможным появлением обратного кровотока через ННП.

Предложенный нами метод математического анализа мгновенных значений расхода позволяет с высокой достоверностью (выше 90%) определять состояние АК (открыт/закрыт) и детектировать обратный кровоток. Для оценки скорости изменения расхода через насос при его взаимодействии с ССС кривая расхода дифференцируется и фильтруется. Затем методами статистического анализа полученные данные обрабатываются, и строятся графики типа «квантиль-квантиль», по которым можно оценивать вероятностный характер распределения величины изменения расхода крови через насос. При нормальном функционировании АК (рис. 7, а–в) диапазон интервалов, в которые попадают значения скорости изменения расхода через насос (вертикальная ось), достаточно широкий (–250; 200). В случае закрытого АК распределение значений скорости изменения расхода через насос ограничивается тремя интервалами (рис. 7, г), по абсолютному значению не превышающими ±25.

Данный способ математического анализа не требует трудоемких математических вычислений и может быть достаточно просто реализован в системе управления ННП.

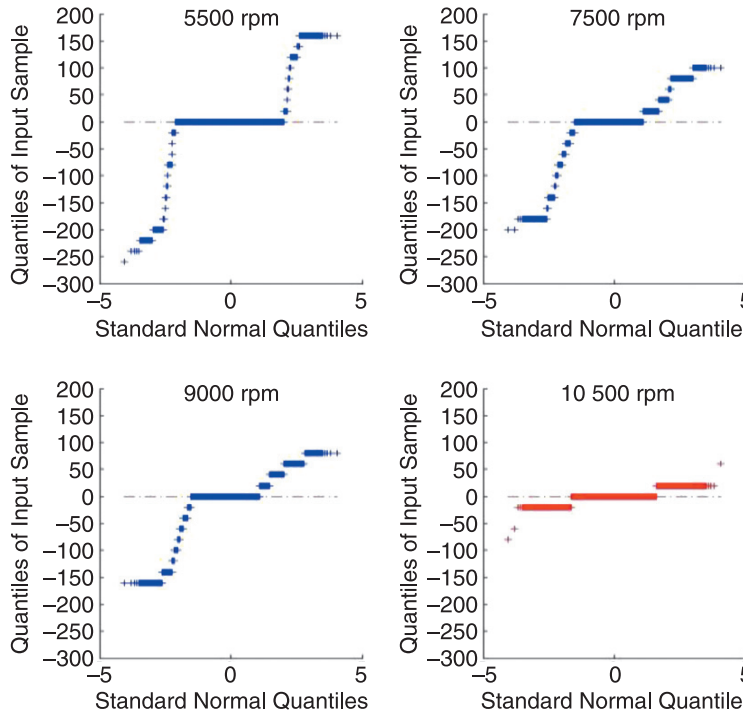


Рис. 7. **Результаты обработки данных о расходе насоса**

Предложенный метод является одним из решений поставленной задачи и позволяет, в частности, идентифицировать один из таких режимов, связанных с прогностически аномальным функционированием АК, который может привести к тромбозу и срастанию его створок. Кроме того, обнаружение отрицательных и нулевых значений расхода через насос при обработке его мгновенных значений позволит исключить и критически низкий расход насоса, приводящий к обратному кровотоку через него, а также присасывание входной канюли. В дальнейшем предполагается ввести предложенный алгоритм в систему индикации критических режимов в отечественной СВК на базе ННП АВК-Н.

Оценка обратного ремоделирования миокарда в условиях МПК

Приблизительно в 5% случаев клинического использования СВК наблюдается восстановление пораженного миокарда (ВМ). Поэтому важно иметь возможность оценки ВМ или обратного ремоделирования по результатам плановых обследований. Для проведения такой оценки нами предложен способ, в основе которого лежит принцип сравнения текущего состояния ССС пациента при ЛЖО с ожидаемым (модель), так как резуль-

таты моделирования ЛЖО адекватно согласуются с экспериментальными данными. В связи с этим при проведении плановых обследований пациента для оценки ВМ необходимо периодическое проведение следующей процедуры: в случае когда при итерационном снижении скорости вращения РК насоса фактически измеренное значение артериального давления не изменяется, можно сделать вывод о процессе обратного ремоделирования миокарда. После подтверждения с помощью эхокардиологических ультразвуковых исследований положительной динамики изменения объемных показателей желудочков сердца необходимо, во-первых, продолжить медикаментозную терапию, направленную на восстановление миокарда, во-вторых, плавно снижать расход насоса, создавая нагрузочные условия для «тренировки» миокарда и ускорения процесса обратного ремоделирования. Кроме того, это позволит снизить энергопотребление насоса, что увеличит время автономной работы от батарей. Отрицательным эффектом снижения производительности насоса может являться уменьшение линейной скорости кровотока в полостях насоса, и соответственно, повышение риска тромбообразования. Тем не менее это может быть скомпенсировано незначительным повышением антикоагулянтной терапии.

Предложенный метод позволит значительно упростить процедуру оценки ВМ.

Получение на модели требуемых РНХ насоса для правожелудочкового обхода

Развитие правожелудочковой недостаточности (ПЖН) является одним из трудно определяемых видов сердечной патологии, имеющим место как при трансплантации сердца, так и при ЛЖО. На модели были воспроизведены условия ПЖН, заключающиеся в повышении сопротивления легочной артерии, увеличении КДО ПЖ и др. Хотя гемодинамика правых отделов при ПЖН мало отличается от системной гемодинамики при ЛЖН, основные отличия связаны со значительно меньшим сосудистым сопротивлением малого круга кровообращения. Давление в легочной артерии повышается до значений 32/20 мм рт. ст., в легочных венах – до 18 мм рт. ст. при увеличении КДО ПЖ до 200 мл.

Снижение МОК при этом менее значительно, чем при ЛЖН – до порядка 3,5–4 л/мин (полученное при моделировании значение – 3,8 л/мин), но повышение давления в легочной артерии (Рла_ср > 25 мм рт. ст.) может вызвать отек легких.

Наибольший интерес моделирования правожелудочкового обхода (ПЖО) в условиях ПЖН представляет оценка изменения градиента давления ПЖ – легочная артерия. При использовании насосов, рассчитанных на работу в системном круге кровообращения, в качестве ПЖО в экс-

перименте на животных выявились проблемы, связанные с повышенным тромбообразованием в полостях насоса. Это связано с реализацией заданного значения расхода насоса при меньшем перепаде давления «вход-выход», который обеспечивается при меньшей частоте вращения РК, характеризующейся низкой линейной скоростью кровотока в полостях насоса, что и привело к повышенному риску тромбообразования. Для решения данной проблемы были предприняты следующие изменения в конструкции выходной магистрали:

- введение гидродинамического сопротивления на выходе насоса, параметры которого позволили увеличить частоту вращения РК насоса до значений, соответствующих режиму левого насоса;
- исключение из конструкции насоса спрямляющего аппарата; при этом для обеспечения заданного расхода потребовалась повышенная частота вращения РК.

Эти попытки на данный момент не дали стабильных положительных результатов. В связи с этим нами рассматривается вопрос об изменении РНХ для правого насоса. Предполагается, что более пологие РНХ могут обеспечить заданный расход насоса при пониженных значениях рабочего давления. Для решения задачи на данной ММ необходимо рассчитать значение требуемого расхода насоса как разницу необходимого физиологически $МОК_{требуемый}$ и $МОК_{патология}$ при ПЖН. Зависимость напора (градиент давления ПЖ – легочная артерия) от требуемого расхода является желаемой РНХ для УПЖО. После определения требуемых РНХ правого насоса они были введены в модель ПЖО. В результате наблюдалась нормализация показателей гемодинамики, но, как и в случае ЛЖО, отличием от нормальной физиологии является пониженное пульсовое давление в легочной артерии (≈5–7 мм рт. ст.). УО ПЖ составил 40 мл, что при ЧСС = 65 уд./мин обеспечивает 2,6 л/мин. Среднее значение производительности УПЖО соответствует рассчитанному (2,4 л/мин). Следовательно, МОК составляет ≈4,9 л/мин.

Результаты моделирования бивентрикулярного обхода

Проблемы имплантируемых систем бивентрикулярного обхода (БВО) связаны прежде всего с трудностями имплантации двух насосов из-за ограниченных размеров грудной клетки. Однако положительные результаты ЛЖО на крупных животных дали основание для разработки системы бивентрикулярного обхода (БВО). Наиболее острым вопросом здесь является обеспечение оптимальной стратегии управления ПЖО и ЛЖО. В рамках нашего исследования было проведено моделирование данного типа СВК.

При построении модели БВО предварительно была смоделирована двусторонняя СН. Затем в модель было введены уравнения ЛЖО и ПЖО

с характеристиками, полученными по результатам моделирования ПЖН. Наибольший интерес здесь представляют показатели расхода через ПЖО и ЛЖО, а также собственный сердечный выброс левого и правого желудочков сердца. Среднее значение расхода ЛЖО составило 4,6 л/мин, а ПЖО – 3,9 л/мин (рис. 8, а, внизу). При этом, собственная производительность правого желудочка составила 1,5 л/мин, а левого – 1 л/мин (рис. 8, а, вверху). Таким образом, общий системный кровоток составил 5,6 л/мин.

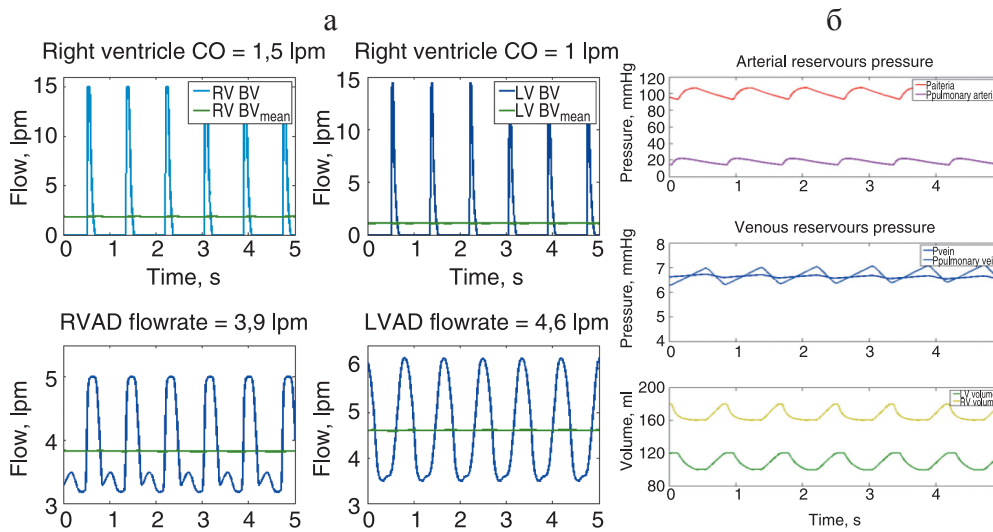


Рис. 8. **Объем перекачиваемой в минуту крови желудочками (а, вверху), насосами крови (а, внизу) и основные показатели давления и объема желудочков (б)**

Суммарная производительность левого и правого кругов отличается приблизительно на 0,2 л/мин, что объясняется учетом в модели бронхиального сброса по большому кругу кровообращения.

При моделировании БВО мы наблюдали нормализацию основных показателей гемодинамики кровообращения по обоим кругам (рис. 8, б). Среднее артериальное давление большого круга составило 97 мм рт. ст., малого – 18 мм рт. ст., давление в венозных резервуарах большого и малого кругов соответственно 6,2 и 6,8 мм рт. ст. На фоне нормализации давления и МОК в условиях обхода обоих желудочков также значительно снизились объемные показатели ЛЖ и ПЖ. КДО ПЖ = 180 мл, КДО ЛЖ = 120 мл. Но при этом с учетом указанных выше объемов перекачиваемой левым и правым желудочком крови УО ЛЖ = 15–17 мл, УО ПЖ = 23–25 мл.

Моделирование БВО представляет наибольший интерес с точки зрения оценки необходимого соотношения производительности двух насо-

сов, поскольку при превышении расхода ПЖО может возникнуть отек легких. Поэтому предварительная оценка режимов, при которых должны работать УПЖО и УЛЖО, и оценка соответствующей гемодинамики кровообращения является крайне важной процедурой.

Результаты исследований на модели БВО были успешно использованы в экспериментальной практике на крупных животных и обеспечили проведение длительных экспериментов.

В настоящее время доля пациентов, которым устанавливается бивентрикулярный обход, составляет приблизительно 3–5%, при том что раньше данный показатель был на уровне 12%. Более адекватные средства диагностики, терапии и развитие трансплантологии позволили сократить число пациентов данной группы. Тем не менее, учитывая общее число больных, данная доля не должна оставаться незамеченной, и развитие средств МПК обоих желудочков сердца все еще остается актуальной проблемой. Поэтому моделирование БВО с возможностью дооперационного прогнозирования эффективности может являться дополнительным этапом при подготовке подобных операций.

ВЫВОДЫ

1. Синтезирована комплексная двухконтурная математическая модель взаимодействия ССС и ННП с возможностью изменения основных параметров сердца от нормы к патологии, включая моделирование клапанных пороков, объемных показателей желудочков и коронарного кровотока.
2. С использованием стендовых исследований получены и введены в модель уравнения, описывающие расходно-напорные характеристики исследуемых осевых насосов. Предложенная методика может быть применена для анализа работы насосов непрерывного потока любой конструкции.
3. Разработан метод косвенной оценки выходных характеристик имплантируемого осевого насоса с использованием сигналов управления им. Относительная погрешность оценки производительности насоса по расходу и перепаду не превышает 4% в рабочем диапазоне скоростей вращения рабочего колеса насоса 7000–8500 об./мин. Данный результат верифицирован с данными, полученными в серии 10 экспериментов на крупных животных.
4. В результате моделирования левожелудочковой недостаточности проведен анализ условий работы насоса. Среднее значение градиента давления ЛЖ–аорта составляет 40 мм рт. ст., при максимальном значении 75 мм рт. ст. Моделирование ЛЖО с использованием ННП в данных условиях позволило определить минимальную частоту вращения РК насоса на этапе «в операционной», а также оп-

тимальный режим (7000 об./мин), обеспечивающий нормализацию МОК патологической ССС до 5 л/мин.
5. Проанализирована достоверность выходных данных модели путем сравнения результатов моделирования ССС с усредненными показателями гемодинамики, взятыми из литературных источников. Полученное значение ошибки не превышает 5–7%.
6. На базе разработанной методики косвенной оценки параметров насоса разработан метод определения критического режима функционирования имплантируемого насоса, связанный с постоянным закрытием аортального клапана. Моделирование СН в условиях ЛЖО с учетом недостаточности митрального клапана от минимальной до полного разрушения показало незначительное снижение (на 0,7 л/мин) расхода через насос, определив, таким образом, необходимость компенсации этого за счет увеличения расхода насоса в данных условиях.
7. По результатам моделирования двусторонней сердечной недостаточности в условиях бивентрикулярного обхода показана необходимость обеспечения разницы производительностей правого и левого насосов порядка 0,6–0,8 л/мин. На примере обхода правого желудочка при правожелудочковой недостаточности предложено модифицировать расходно-напорные характеристики насосов крови с учетом измененной гидравлической нагрузки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Модель может быть использована в экспериментах на телятах для определения расхода правого и левого насоса при бивентрикулярном обходе в условиях режима фибрилляции желудочков сердца.
2. При проектировании новых моделей имплантируемых осевых насосов с помощью математической модели можно задавать параметры расходно-напорных характеристик с учетом гидравлических нагрузок (для правожелудочкового обхода и педиатрических насосов).
3. Целесообразно использование модели при разработке методов и средств управления ИОН для определения оптимального диапазона расхода насоса (режима минимального и максимального расхода насоса) с целью исключения обратного кровотока и стагнации кровотока за аортальным клапаном.
4. Комплексная модель рекомендуется к использованию в учебных целях для проведения лабораторных работ по исследованию влияния изменения параметров ССС на гемодинамику большого и малого кругов кровообращения в условиях нормы и патологии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. ***Быков И.В.**, Дозоров К.Н., Иткин Г.П.* Математическая модель для исследования взаимодействия сердечно-сосудистой системы и роторного насоса в условиях нормы и патологии сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. 14. – 273 с.
2. ***Быков И.В.*** Математическая модель как средство оценки эффективности применения вспомогательного кровообращения в качестве терапии при сочетанной сердечной недостаточности / Быков И.В., Иткин Г.П. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2013. – Т. 14. – № 6. – 178 с.
3. ***Быков И.В.**, Иткин Г.П.* Математическое моделирование взаимодействия сердечно-сосудистой системы и насоса непульсирующего потока в условиях сердечной недостаточности // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16. – 239 с.
4. ***Быков И.В.**, Иткин Г.П.* Принципы построения математической модели для исследования взаимодействия насосов непрерывного потока и сердечно-сосудистой системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – № 3. – С. 59–65.
5. *Дозоров К.Н., Адаскин А.В.,* ***Быков И.В.**, Филатов И.А.* Средства дистанционного мониторинга параметров носимой системы вспомогательного кровообращения отечественного производства // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. 16. – 241 с.
6. *Иткин Г.П., Конышева Е.Г., Шемакин С.Ю., Дозоров К.Н., Кудинов В.Л.,* ***Быков И.В.**, Селищев С.В.* Теоретическое и экспериментальное рассмотрение динамических характеристик осевых насосов крови // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – № 3. – С. 91–97.
7. Свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2014615629 от 29.05.2014.
8. *Adaskin A.,* ***Bykov I.**, Dozorov K., Filatov I., Rosinov A., Sergeychik V.* The experience of clinical usage of the first Russian left ventricular assist device // Proceedings of 1st Russian German Conference on Biomedical Engineering RGC 2013. – Hanover, 2013. – P. 84.

Венедиктов Алексей Александрович

РАЗРАБОТКА БИОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ НА ОСНОВЕ КСЕНОПЕРИКАРДИАЛЬНОЙ ТКАНИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы
03.01.04 – биохимия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Москва – 2014

Работа выполнена в Пензенском педагогическом институте им. В.Г. Белинского Пензенского государственного университета;
ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России

Научные руководители:
доктор биологических наук, профессор **Севастьянов Виктор Иванович**
доктор биологических наук, профессор **Генгин Михаил Трофимович**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В биологических материалах с заданными и контролируемыми характеристиками нуждаются многие технологии реконструктивной и заместительной хирургии, направленные на восполнение потери и активизацию регенераторных процессов мягких тканей организма. Медицинские имплантаты, созданные на основе синтетических искусственных материалов, имеют определенные достоинства, однако они не в состоянии повторить пространственную архитектонику и физиологическую активность биологических материалов. Несмотря на то что многие исследователи де-

лают акцент на производство и внедрение синтетических материалов, в настоящее время большое внимание уделяется разработке медицинских изделий на основе биоматериалов биологического происхождения, таких как биополимеры или биоткани. Биологические материалы помимо высокой степени биосовместимости с организмом являются высокоэффективными биостимуляторами, а продукты биодеструкции таких материалов безопасны и в ряде случаев могут быть веществами, включаемыми в метаболизм клеток. Сфера применения таких биоимплантатов непрерывно расширяется, что диктует необходимость создания медицинских изделий на их основе с широким спектром свойств, разным поведением и разным биологическим действием.

Наиболее перспективным направлением на сегодняшний день является разработка биоимплантатов на основе коллагенсодержащих биотканей. Одной из разновидностей подобных материалов является обработанный разными способами ксеноперикард крупного рогатого скота.

Настоящая работа направлена на разработку и исследование биоимплантатов на основе ксеноперикардиальной ткани с разными физико-механическими и биорезорбируемыми свойствами для различных областей реконструктивной и заместительной хирургии.

Цель работы: разработка способов обработки ксеноперикардиальной ткани для получения биоимплантатов с заданными физико-механическими и биорезорбируемыми свойствами.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи.

1. Найти режимы многостадийной химико-ферментативной обработки ксеноперикардиальной ткани, позволяющие варьировать физико-механическими и биорезорбируемыми свойствами биоткани.
2. Провести сравнительный анализ физико-механических и биорезорбируемых свойств полученных ксеноперикардиальных биоматериалов.
3. Изучить местное действие полученных ксеноперикардиальных биоматериалов после имплантации в ткани животных.
4. Провести оценку функциональных свойств разработанных ксеноперикардиальных биоматериалов в условиях *in vivo*.

Научная новизна работы

Впервые показано, что изменением параметров ключевых стадий химико-ферментативной обработки ксеноперикардиальной ткани (концентрация фермента, температура ферментативной инкубации, инкубация в средах с разным осмотическим давлением, концентрация сшивающего агента) можно направленно влиять на структуру и свойства биоткани. Разработана оригинальная методика химико-ферментативной обработки ксеноперикардиальной ткани. Разработаны 2 протокола обработки ксе-

ноперикарда, позволяющие получать биосовместимые материалы с разными физико-механическими и биорезорбируемыми свойствами. Проведен сравнительный анализ физико-механических и биорезорбируемых свойств в условиях *in vitro* двух видов разработанных биоматериалов с контролем (известным запатентованным способом). В экспериментах *in vivo* доказано, что независимо от выбранных режимов обработки полученные биоматериалы не вызывают отторжения, подвергаются процессам биоинтеграции и замещаются новообразованной васкуляризованной тканью. На экспериментальных моделях имплантации в условиях *in vivo* в брюшную стенку и стенку мочевого пузыря доказаны высокие адаптационные и интеграционные свойства разработанных ксеноперикардиальных биоматериалов к мягким тканям.

Научная и практическая значимость работы

Разработанные протоколы обработки биоткани позволили создать два вида биоматериала, отличающихся физико-механическими и биорезорбирующими свойствами, как потенциальных имплантатов для реконструктивно-восстановительной и пластической хирургии мягких тканей.

«Ксеноперикардиальный биоматериал I» характеризуется высокими показателями прочности и упругости, обладает низкой скоростью резорбции и относительно медленным замещением собственными тканями. Он может быть преимущественно использован в качестве биоматериала, замещающего поврежденные ткани, подверженные механической нагрузке, например, в реконструктивных операциях для пластики дефектов сухожильно-связочных структур, в герниопластике, гинекологии, а также в антирефлюксной хирургии.

«Ксеноперикардиальный биоматериал II» с относительно низкими показателями упруго-деформативных свойств, но с большей скоростью резорбции и высокой степенью биоинтеграции, может быть преимущественно использован в качестве биоматериала, замещающего поврежденные ткани, не подверженные механической нагрузке, например, в реконструктивных операциях для протезирования твердой мозговой оболочки, укрытия культи почки, пластике мочевого пузыря и мочеточников, корпоропластике при болезни Пейрони и других операциях.

Положения, выносимые на защиту

1. Экспериментально установлено, что изменение параметров ключевых стадий многостадийной химико-ферментативной обработки ксеноперикарда (концентрация фермента, температура ферментативной инкубации, инкубация в средах с разным осмотическим давлением, концентрация сшивающего агента) существенно влияет на структурные свойства биоткани.

2. Показана возможность получать ксеноперикардиальные биоматериалы с различной скоростью резорбции и физико-механическими характеристиками.
3. Разработана оригинальная химико-ферментативная методика обработки ксеноперикарда.
4. На основе разработанных протоколов химико-ферментативной обработки ксеноперикарда получены два вида биоматериала с заданными физико-механическими свойствами и скоростью резорбции.
5. Доказано, что независимо от режима обработки биоткани разработанные ксеноперикардиальные биоматериалы обладают высокими биосовместимыми свойствами: не вызывают реакции отторжения при имплантации, биорезорбция имплантата в условиях *in vivo* сопровождается замещением новообразованной тканью животного и процессами неоваскуляризации.
6. Активность процесса новообразования соединительной ткани в месте имплантации ксеноперикардиального биоматериала через год после операции превосходит на 25% аналогичный показатель, полученный в тканях вокруг полипропиленовой сетки.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены и обсуждены на многих российских и международных конференциях и выставках медицинских изделий:

- региональная научно-техническая конференция «Инновационные технологии в экономике, информатике и медицине», г. Пенза, 2010;
- научно-практическая конференция «Достижения и перспективы развития биотехнологии», г. Пенза, 2010;
- научно-практическая конференция «Фундаментальные исследования в Пензенской области: состояние и перспективы», г. Пенза, 2010;
- межрегиональная научно-практическая конференция памяти академика Н.Н. Бурденко «Актуальные проблемы современного практического здравоохранения», г. Пенза, 2010;
- общероссийский съезд травматологов-ортопедов России, г. Саратов, 2010;
- XVI Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, г. Москва, 2010;
- XVII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, г. Москва, 2011;
- XVIII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, г. Москва, 2012;
- Международная выставка медицинских изделий «Medica 2011» (г. Дюссельдорф, Германия);

– Международный съезд кистевых хирургов «FESSH 2012» (г. Антверпен, Бельгия);
– Международный съезд сердечно-сосудистых и торакальных хирургов «The 20st annual meeting of the ASCVTS-2012» (г. Нуса-Дуа, Индонезия);
– Международный съезд сердечно-сосудистых и торакальных хирургов «The 26st annual meeting of the EACTS-2012» (г. Барселона, Испания);
– Международный съезд сердечно-сосудистых и торакальных хирургов «The 21st annual meeting of the ASCVTS-2013» (г. Кобе, Япония);
– Научно-практическая конференция «Инновационные имплантаты в хирургии» (г. Пенза, 2014).

Публикации

По материалам диссертации опубликованы 19 работ, в том числе 9 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, поданы 2 заявки на патент РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, экспериментально-клинических данных применения разработанных биоматериалов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 125 страницах, иллюстрирована 47 рисунками и 12 таблицами. Список цитируемой литературы включает 128 источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальный материал: реактивы производства компаний «Sigma-Aldrich Chemie GmbH» (Германия) и «Panreac Quimica SA» (Испания), перикардиальная ткань телят и быков, забранная у здоровых животных с ОАО МПК «Пензенский» в соответствии с требованиями международных стандартов серии ISO 9001и ISO 22442 и доставленная в химико-биологическую лабораторию в течение не более 3 ч в изотермических контейнерах («Campingaz» вертикальный 30 л) в физиологической изотонической среде с аккумуляторами холода.

Определение физико-механических параметров ксеноперикарда

Физико-механические параметры полученных биоматериалов оценивали по четырем параметрам: модуль упругости, максимальная нагрузка, напряжение при растяжении при максимальной нагрузке и относитель-

ное удлинение при растяжении. Исследование зависимости «напряжение – относительное удлинение» для расчета модуля упругости проводилось на экспериментальной разработанной установке. Для исследования выбирались однородные по толщине образцы ткани перикарда, толщина ткани определялась микрометром не менее чем в 10 точках, на ткани выбирались участки одинаковой толщины, после чего из нее специальным приспособлением вырубались образцы шириной 2 мм и длиной 20–30 мм. Образцы закреплялись в зажимах таким образом, чтобы рабочая часть образца составляла 18–20 мм. Используемая установка позволяла оценивать ряд физико-механических свойств образцов при их нахождении в физиологическом растворе. Расчет сечения растянутого образца выполняли с учетом его несжимаемости. Все исследования зависимости «напряжение – относительное удлинение» проводили в области упругих деформаций. Область упругих деформаций определяли по следующим признакам. Если после каждого цикла «нагрузка – снятие нагрузки» образец мгновенно восстанавливал свои первоначальные размеры, то данная область относилась к области упругих деформаций. Модуль упругости вычисляли по тангенсу угла наклона прямых в координатах «напряжение – относительное удлинение». Исследование остальных физико-механических характеристик экспериментального материала определяли на испытательной машине «Instron Biopuls 3342 (0,5 кН)» с анализом следующих параметров: максимальная нагрузка, напряжение при разрушении, относительное удлинение.

Исследование скорости резорбции биоматериалов в условиях *in vitro*

На модели in vitro определяли время резорбции образцов ксеноперикарда в боратном буферном растворе (pH = 7,4). Испытание окислительной деструкции образцов проводили в реактиве Фентона (pH = 7,4) следующего состава: 100 мкмоль/л сульфата железа (Fe2+) и 1 ммоль/л 3% H_2O_2. Перед экспериментом образцы высушивали до постоянной массы при 70–85 °C с точностью до 0,0001 г. Затем образцы инкубировали при 37 °C в модельной среде в течение 2, 4 и 12 нед. После окончания каждой серии эксперимента образцы высушивали до постоянной массы и взвешивали. Частота смены среды: 1 раз в 3 дня.

Исследование местного действия биоматериалов после имплантации

Для изучения тканевой реакции на имплантируемый материал и процесса его биоинтеграции образцы биоматериалов имплантировали под кожу крысам (Wistar, самцы, масса 220–260 г) в область межлопаточного

пространства. Операцию выполняли в стерильных условиях под эфирным наркозом.

Гистологическое исследование образцов

Исследования проводили в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-6-2009 «Исследование местного действия после имплантации». Изменение структуры биоматериала после имплантации анализировали методом световой микроскопии с окраской препаратов гематоксилин-эозином и по Вейгерту–Ван-Гизону. Гистологические срезы изучали с использованием микроскопа Zeiss Imager Al (Zeiss). Изображения получали с помощью камеры AxioCam MRc 5 (Zeiss).

Экспериментальные модели для оценки функциональных свойств ксеноперикардиальных биоматериалов в условиях *in vivo*

В качестве экспериментальных животных были выбраны кролики породы Шиншилла массой до 3,5 кг. Была создана модель имплантации исследуемого ксеноперикардиального биоматериала, максимально приближенная к условиям протезирования брюшной стенки человека, а также протезирования стенки мочевого пузыря. Гистологическому исследованию подвергались микропрепараты, изготовленные из фрагментов брюшной стенки и стенки мочевого пузыря, содержащих имплантаты. Изучали основные морфологические параметры тканевой реакции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Глава 1. Разработка протоколов обработки ксеноперикардиальной ткани

За основу разработки был взят способ подготовки биоткани для ксенопротезирования, описанный в патенте РФ № 2197818. Обработка ксеноперикарда с целью получения биоматериала для имплантируемых изделий – многостадийный процесс. Были выделены следующие ключевые параметры обработки:

- концентрация фермента;
- температура ферментативной инкубации;
- инкубация в средах с разным осмотическим давлением;
- концентрация сшивающего агента.

После экспериментального изучения параметров обработки биоткани были выбраны «рабочие» режимы каждого из них. Исходя из этих данных, была составлена матрица параметров протокола обработки биома-

териала. На основании требований к разрабатываемым биоматериалам путем комбинации параметров по матрице были разработаны протоколы обработки ксеноперикарда для каждого вида биоматериала. В эксперименте участвовало 3 группы образцов.

Протокол № 1. Образцы ксеноперикардиальной ткани обрабатывали следующим образом. После первичной обработки образцы подвергали экспозиции в растворе хлористого натрия в течение 1 ч (концентрация соли в гипертонической среде – 2%), затем промывали проточной водой и проводили ферментацию с концентрацией протеолитического фермента 10 ПЕ в боратном буферном растворе (pH = 8,2) в умеренно щелочной среде при температуре 37 °С в течение 4 ч для разрушения клеточных элементов и сохранения белкового каркаса. После нейтрализации фермента пикельным раствором (9,5% хлористого натрия + 4% раствор уксусной кислоты) последний нейтрализовали 0,1М раствором гидрокарбоната натрия в течение 20 мин. Продукты протеолиза удаляли в дистиллированной воде в течение 1 ч с последующей гипертонической экстракцией в растворах с нарастающей концентрацией. Соли удаляли проточным промыванием в течение 10 мин. Далее обработанный перикард помещали на специальные приспособления в ненапряженном состоянии для придания соответствующей формы и проводили структурную стабилизацию в 0,25% растворе глутарового альдегида на боратном буфере (в кислой среде). Затем материал с заданной формой снимали с приспособлений и подвергали химической стерилизации. Образцы этой группы обработаны в соответствии со способом подготовки биоткани для ксенопротезирования, описанном в патенте РФ № 2197818. Эта группа образцов служила контрольной группой сравнения в экспериментальном исследовании. Шифр образцов «Контроль».

Протокол № 2. Образцы ксеноперикардиальной ткани обрабатывали следующим образом. После первичной обработки образцы подвергали экспозиции в растворе хлористого натрия в течение 1 ч (концентрация соли в гипертонической среде – 2%), затем, в отличие от контроля, не промывая проточной водой, погружали ткань в 4% раствор хлористого натрия для создания пониженного осмотического давления и помещали образцы в ультразвуковую ванну, в отличие от контроля, на определенное время. Подобная обработка ткани позволяет уменьшить количество используемого фермента на последующей стадии, не затрагивая целостности коллагеновых и эластических волокон. Затем проводили ферментацию с пониженной в отличие от контроля концентрацией протеолитического фермента хПЕ (где $x < 5$) в ацетатном буферном растворе (pH = 5,4) в кислой среде (в отличие от контроля) при температуре 37 °С в течение 40 мин (в отличие от контроля) для разрушения клеточных элементов и сохранения белкового каркаса. Замена буферного раствора с боратного на ацетатный за счет смены среды с основной на кислую позволяет со-

кратить время действия фермента при инкубации. После нейтрализации фермента пикельным раствором (9,5% хлористого натрия + 4% раствор уксусной кислоты) последний нейтрализовали 0,1М раствором гидрокарбоната натрия в течение 20 мин. Продукты протеолиза удаляли в дистиллированной воде в течение 1 ч с последующей гипертонической экстракцией в растворах с нарастающей концентрацией. Соли удаляли проточным промыванием в течение 10 мин. Далее обработанный перикард помещали на специальные приспособления в ненапряженном состоянии для придания соответствующей формы и проводили структурную стабилизацию в многократно заменяемых растворах глутарового альдегида с повышенной восходящей концентрацией (0,25 + 0,5%) в отличие от контроля для создания более «зашитого» матрикса. Затем биоматериал с заданной формой снимали с приспособлений и подвергали химической стерилизации. Шифр образцов «Ксеноперикардиальный биоматериал I – КБ-I».

Протокол № 3. Образцы ксеноперикардиальной ткани обрабатывали следующим образом. После первичной обработки образцы подвергали экспозиции в растворе хлористого натрия в течение 1 ч (концентрация соли в гипертонической среде – 2%), затем, в отличие от контроля, не промывая проточной водой, погружали ткань в 4% раствор хлористого натрия для создания пониженного осмотического давления и помещали образцы в ультразвуковую ванну в отличие от контроля на определенное время. Затем проводили ферментацию с пониженной в отличие от контроля и повышенной в отличие от образцов «КБ-I» концентрацией протеолитического фермента 2хПЕ (где $x < 5$) в ацетатном буферном растворе (pH = 5,4) в кислой среде (в отличие от контроля) при температуре 35 °С в течение 1 часа (в отличие от контроля и «КБ-I»). Комбинацию трех параметров с более высокой концентрацией фермента, низкой температурой и увеличенной экспозицией применяли для увеличения коллагеназной и эластазной активности фермента, что позволяло получить более рыхлую структуру биоматериала. После нейтрализации фермента пикельным раствором (9,5% хлористого натрия + 4% раствор уксусной кислоты) последний нейтрализовали 0,1М раствором гидрокарбоната натрия в течение 20 мин. Продукты протеолиза удаляли в дистиллированной воде в течение 1 ч с последующей гипертонической экстракцией в растворах с нарастающей концентрацией. Соли удаляли проточным промыванием в течение 10 мин. Далее обработанный перикард помещали на специальные приспособления в ненапряженном состоянии для придания соответствующей формы и проводили структурную стабилизацию в растворе глутарового альдегида с фиксированной низкой (0,1%) концентрацией в отличие от контроля и группы «КБ-I». Полученная биоткань, будучи слабо «зашитой», должна обладать максимальной, в ряду полученных биоматериалов,

скоростью биорезорбции. Шифр образцов «Ксеноперикардиальный биоматериал II – КБ-II».

Таким образом, общими основными отличительными особенностями технологии обработки экспериментальных групп от способа, описанного в патенте РФ № 2197818, являются следующие:

1. Отсутствие стадии промывки проточной водой перед ферментацией после выдержки в растворе хлористого натрия.
2. Воздействие ультразвука на ткань перед стадией ферментации.
3. Использование ацетатного буферного раствора с кислой средой на стадии инкубации биоткани в ферментном растворе.
4. Снижение концентрации фермента.
5. Уменьшение времени инкубации биоткани в ферментном растворе (в 4 раза).

Дополнительно технология обработки каждой из экспериментальных групп также имеет свои отличительные особенности по сравнению с контролем и друг с другом (табл. 1).

Таблица 1

Схема обработки экспериментальных групп образцов биоматериала

Стадия обработки			Экспериментальные группы		
			Контроль	КБ-I	КБ-II
1	Обработка хлористым натрием		2% (1 ч)	2% (1 ч)	2% (1 ч)
2	Промывка проточной водой		+	–	–
3	Гипертонический шок		–	4% (2 ч)	4% (2 ч)
4	Воздействие УЗ		–	+	+
5	Е	*Буферный раствор*	Боратный (pH = 8,2)	Ацетатный (pH = 5,4)	Ацетатный (pH = 5,4)
		Концентрация фермента	10ПЕ	х ПЕ	2х ПЕ
		Время инкубации	4 ч	40 мин	1 ч
		Температура (°С)	37	37	35
6	Инактивация		9,5% NACl + 4% УК	9,5% NACl + 4% УК	9,5% NACl + 4% УК
7	Нейтрализация (гидрокарбонат)		0,1М	0,1М	0,1М
8	Промывка дистиллированной водой		+	+	+
9	Возрастающие концентрации ГА		0,1%	0,25%	0,1%
			0,25%	0,5%	

Глава 2. Физико-механические свойства ксеноперикардиальных биоматериалов

Ксеноперикардиальные биоматериалы, полученные по разработанным протоколам, обладают различными упруго-деформативными и прочностными характеристиками.

2.1. Модуль упругости (модуль Юнга)

Согласно рис. 1, а, модуль упругости образцов «КБ-I» превосходит аналогичный показатель для образцов «КБ-II» в ~ 2 раза. Модули упругости образцов «Контроль» и «КБ-II» достоверно не различаются.

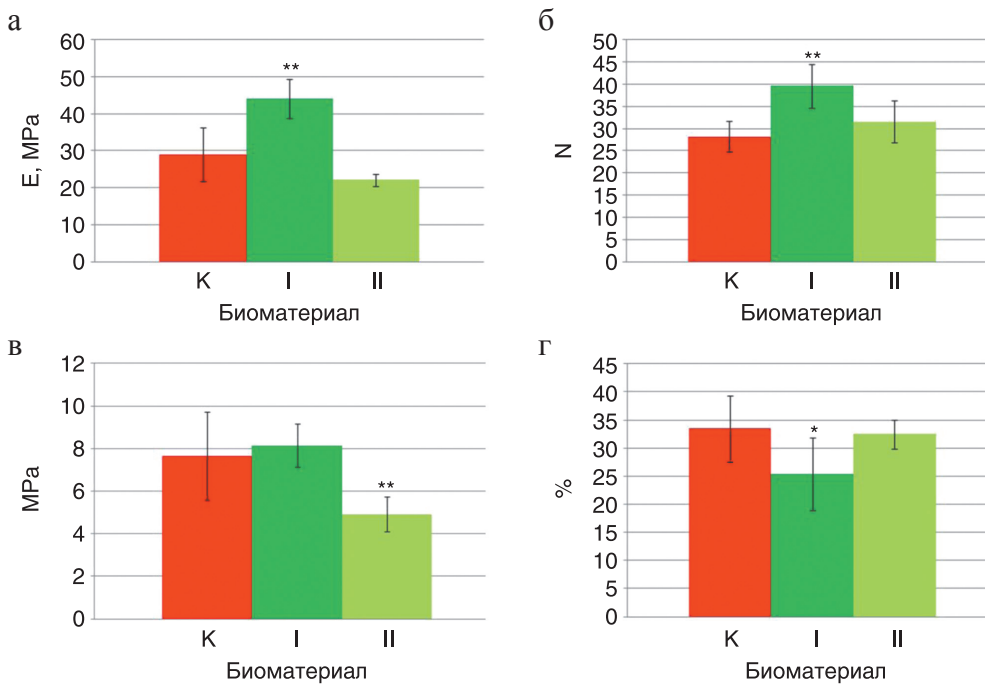


Рис. 1. **а – значения модуля упругости групп образцов; б – значения максимальной нагрузки групп образцов; в – значения напряжения при растяжении при максимальной нагрузке групп образцов; г – значения показателя относительного удлинения при растяжении образцов биоматериала (* – достоверно $p < 0,05$; ** – достоверно $p < 0,01$)**

Подобное изменение упругих свойств связано с экспозицией материала в фиксирующих растворах с разными концентрациями. Относитель-

но сравнения данных значений модуля упругости групп «Контроль» и «КБ-I» логично предположить наличие более плотной пространственной сети из образованных на матриксе сшивок во втором случае. Образцы «КБ-II» обрабатывались только низкой концентрацией глутарового альдегида (0,1%) по сравнению с группой «Контроль» (0,1 + 0,25%), и это привело к незначительному снижению упругих свойств биоткани без достоверных отличий. Вероятно, качество пространственного расположения поперечных сшивок сопоставимо в образцах обеих тканей, и поэтому в зоне абсолютно упругих деформаций материалы ведут себя схожим образом.

2.2. Максимальная нагрузка

Согласно полученным данным (рис. 1, б), образцы «КБ-I» обладают самыми высокими прочностными показателями. Максимальная нагрузка образцов этой группы выше аналогичных показателей группы «Контроль» в 1,36 раза. Полученные данные подтверждают и дополняют результаты исследования модуля упругости образцов. Материал, обработанный сшивающим агентом более высокой концентрации, является более прочным. Разумеется, количество сшивок в биоматериале – это не единственный критерий, по которому можно оценить прочность биоматериала и его физико-механические параметры в целом. Требуется комплексный подход к изучению этих параметров. В случае с образцами «КБ-II» достоверных отличий относительно показателя максимальной нагрузки не наблюдается.

2.3. Напряжение при разрушении при максимальной нагрузке

Величина НРМН у образцов «КБ-II» ниже по сравнению с группой «Контроль» в 1,55 раза (рис. 1, в). Это связано с более глубоким изменением нативной структуры биоткани, сопряженной с утратой некоторого количества слабых и прочных молекулярных взаимодействий. Обработка слабыми растворами сшивающего агента ксеноперикарда по Протоколу № 3 сильно влияет на архитектонику матрикса и на распределение сил при одноосном растяжении за счет изменения пространственной структуры самих структурных белков и образованных поперечных сшивок. У образцов «КБ-I» значение НРМН практически не отличается от аналогичных показателей группы «Контроль» и не обнаруживает достоверных отличий. Следовательно, такой вид обработки биоткани не влияет на распределение сил между волокнами структурных белков при приложении нагрузки в виде одноосного растяжения, а значит, среди всех типов обработки именно Протокол № 2 дает возможность получить архитектонику матрикса, сходную со структурой материала после ферментативной обработки и процесса кросс-линга по Протоколу № 1.

2.4. Относительное удлинение при растяжении (ОУР)

Величина ОУР образцов «КБ-I» ниже аналогичного параметра образцов группы «Контроль» в 1,32 раза (рис. 1, г). Показатели ОУР образцов «КБ-II» и группы «Контроль» достоверно не отличаются. Обработка биоткани по Протоколу № 2 дает менее растяжимый материал. Результаты дополняют данные предыдущих экспериментов по изучению физико-механических свойств и подтверждают наличие у образцов «КБ-I» более плотной и прочной сшивки матрикса глутаровым альдегидом. Качество и количество поперечных сшивок в случае с обработкой по Протоколу № 3, согласно полученным данным, сопоставимы с аналогичными у образцов, обработанных по Протоколу № 1.

Таким образом, после обработки биоткани по Протоколу № 2 получен материал, который обладает более высоким модулем упругости, он выдерживает более высокие нагрузки и меньше деформируется при максимальной нагрузке. Кроме того, такой биоматериал обладает более высоким напряжением при разрушении. Это биоматериал с более плотно зашитой белковой матрицей и как следствие более прочной и менее растяжимой структурой. Изученные физико-механические свойства образцов ксеноперикардиального биоматериала, обработанного по Протоколу № 3, дают представление об организационной структуре матрицы после данной обработки. Практически по всем свойствам значения параметров физико-механических характеристик этой группы образцов сходны с параметрами образцов группы «Контроль». Это говорит о сходстве в архитектонике матриксов биоткани этих групп, однако отличие значений максимального напряжения при разрушении указывает на то, что пространственная сеть сшивок глутаровым альдегидом матрицы в этих случаях устроена не одинаково.

Глава 3. Исследование скорости резорбции ксеноперикардиальных биоматериалов в условиях *in vitro*

После имплантации материала в ткани животных он может подвергнуться воздействию агрессивной окисляющей среды, которая формируется при развитии клеточного ответа, например, вызванного развитием реакции на инородное тело. Химия реакций клеточного ответа может описываться реакцией Фентона и сопровождаться внутриклеточным накоплением избытка ионов железа (один из компонентов реактива Фентона). Были смоделированы условия окисления *in vitro* и изучена скорость деструкции экспериментальных образцов ксеноперикарда в реактиве Фентона (pH = 7,4). Была изучена резорбция разрабатываемых материалов при продолжительной инкубации в нейтральной и окисляющей средах.

Имплантаты в зависимости от вида замещающей ткани должны обладать разной скоростью биорезорбции после имплантации. В настоящей главе представлены результаты исследования скорости резорбции образцов полученных ксеноперикардиальных биоматериалов при продолжительной инкубации в нейтральной и окисляющей средах. Экспериментальные образцы всех полученных биоматериалов были стабильны в боратном буфере (pH = 7,4), и в течение 8 нед. их масса изменялась не более чем на 15% (рис. 2) Средняя скорость резорбции образцов в боратном буферном растворе (pH = 7,4) составила 1,5, 1,3, 2,3% в неделю у образцов «Контроль», «КБ-I» и «КБ-II» соответственно. После имплантации материала в ткани животных он может подвергнуться воздействию агрессивной окисляющей среды, которая формируется при развитии клеточного ответа, например, вызванного развитием реакции на инородное тело. Химия реакций клеточного ответа может описывать-

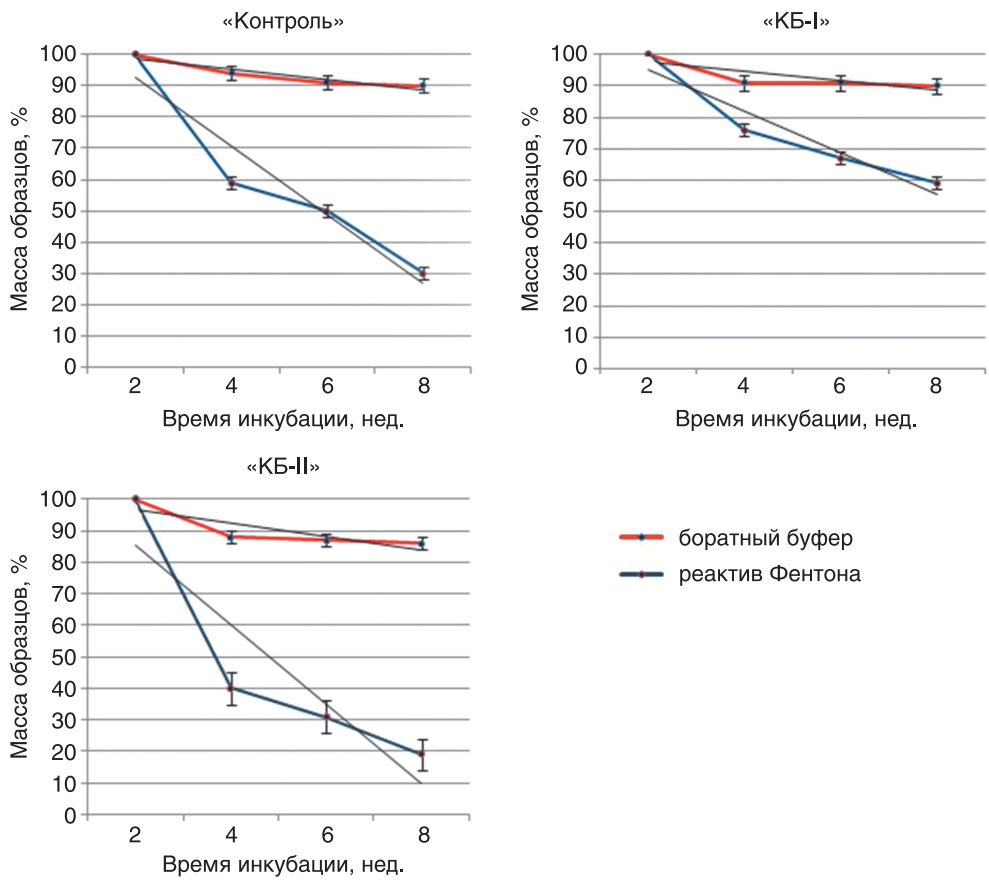


Рис. 2. **Динамика резорбции образцов ксеноперикардиальных биоматериалов в боратном буфере и реактиве Фентона**

ся реакцией Фентона и сопровождаться внутриклеточным накоплением избытка ионов железа (один из компонентов реактива Фентона). В эксперименте были смоделированы такие агрессивные условия *in vitro* и изучена скорость резорбции экспериментальных образцов ксеноперикарда в реактиве Фентона (pH = 7,4).

Быстрая резорбция материала в условиях in vitro предполагает и быструю биорезорбцию тканеинженерной конструкции из ксеноперикарда в условиях выраженного клеточного ответа или при развитии воспалительных процессов в организме человека. Под воздействием гидроксильных радикалов реактива Фентона образцы из разных экспериментальных групп претерпевали разную скорость резорбции, отличную от резорбции, наблюдаемой в образцах с инкубацией в боратном буфере (рис. 2).

Глава 4. Исследование местного действия ксеноперикардиальных биоматериалов после имплантации

4.1. Гистологическое исследование образцов группы «Контроль»

При проведении гистологического исследования (рис. 3) ксеноперикарда, обработанного по Протоколу № 1 перед имплантацией, было выявлено:

- при окраске гематоксилином и эозином клеточные элементы не встречались;
- при окраске по Вейгерту–Ван-Гизону состояние эластических и коллагеновых волокон оставалось без изменений.

14-е сутки. В исследуемых образцах при окраске гематоксилином и эозином отмечена в 2 образцах слабо выраженная лимфоцитарная инфильтрация (на толщину 2/3 от толщины ксеноперикардиальной пластины) с включением эпителиоидных клеток и клеток фибропластического ряда, в 1 образце умеренно выраженная лимфоцитарная инфильтрация. Вокруг образцов ксеноперикарда сохранялась умеренная клеточная инфильтрация, наблюдалось образование грануляционной ткани с единичными новообразованными сосудами. При анализе гистологических препаратов, окрашенных по Вейгерту–Ван-Гизону, выявлено разрушение коллагеновых и эластических волокон средней степени выраженности, что свидетельствует о процессах биорезорбции исследуемого объекта и перестройки материала.

30-е сутки. В тканевом ложе трансплантата отмечаются выраженные пролиферативные процессы. Биоматериал трансплантата имеет однородную структуру, по наружной поверхности инфильтрирован лимфоцитами и гистиоцитами. Трансплантат окружен выраженным инфильтрационным валом. В составе клеточного инфильтрата выявляются лимфоциты,

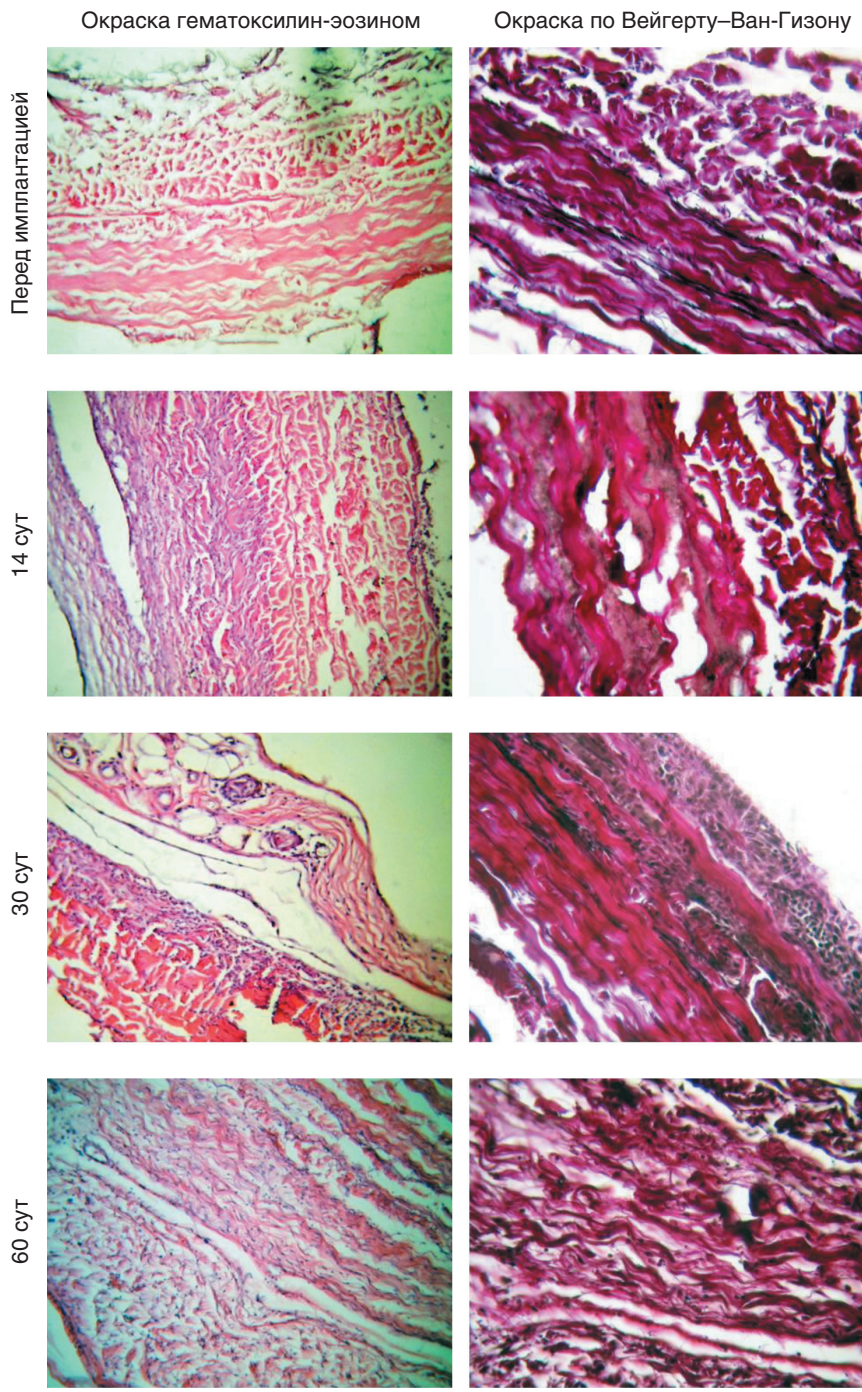


Рис. 3. **Гистологические срезы образцов «Контроль» перед имплантацией и после имплантации на сроках 14, 30 и 60 сут (окраска гематоксилин-эозином и по Вейгерту–Ван-Гизону, ×200)**

гистиоциты, плазматические клетки, клетки фибробластического ряда. В зоне непосредственного контакта с биоматериалом превалируют лимфоциты и гистиоциты, на периферии грануляционного вала пролиферирующие фибробласты и очаги новообразованного коллагена. В реактивной зоне вокруг ксеноперикарда определяются новообразованные кровеносные сосуды. При окраске по Вейгерту–Ван-Гизону выявлены формирующиеся собственные коллагеновые и эластические волокна.

60-е сутки. Через два месяца начинают проявляться явления биорезорбции биоматериала на наружной его поверхности, отмечено практически полное прорастание собственной соединительной ткани и новообразованных сосудов. Отмечается значительное уменьшение количества лимфоцитов и макрофагов в воспалительном инфильтрате. Пролиферирующие фибробласты активно синтезируют соединительно-тканный каркас вокруг трансплантата. При окраске по Вейгерту–Ван-Гизону выявляется большее количество новообразованных собственных коллагеновых и эластических волокон. Данные изменения свидетельствуют об активном процессе биорезорбции имплантата и интеграции собственной соединительной ткани в ксеноперикард с последующим его замещением.

4.2. Гистологическое исследование образцов «Ксеноперикардиального биоматериала I»

При проведении гистологического исследования (рис. 4) ксеноперикарда, обработанного по Протоколу № 2 перед имплантацией, было выявлено:

- при окраске гематоксилином и эозином клеточные элементы не встречались;
- при окраске по Вейгерту–Ван-Гизону состояние эластических и коллагеновых волокон оставалось без изменений, но волокна имели более плотное расположение.

14-е сутки. В образцах при окраске гематоксилином и эозином отмечена умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация, в одном образце отмечаются процессы разрастания соединительной ткани по периферии ксеноперикарда, т. е. инкапсуляции, в остальных образцах лейкоциты проникают на 1/3 в толщу пластины.

При анализе гистологических препаратов, окрашенных по Вейгерту–Ван-Гизону, выявлено частичное разрушение коллагеновых и эластических волокон на всю толщу лимфоцитарной инфильтрации, а в толще ксеноперикардиальной пластины наблюдаются неизмененные коллагеновые и эластические волокна, что свидетельствует о слабоактивных процессах биоинтеграции исследуемого объекта.

30-е сутки. К концу первого месяца эксперимента в тканевом ложе трансплантата отмечаются выраженные пролиферативные процессы.

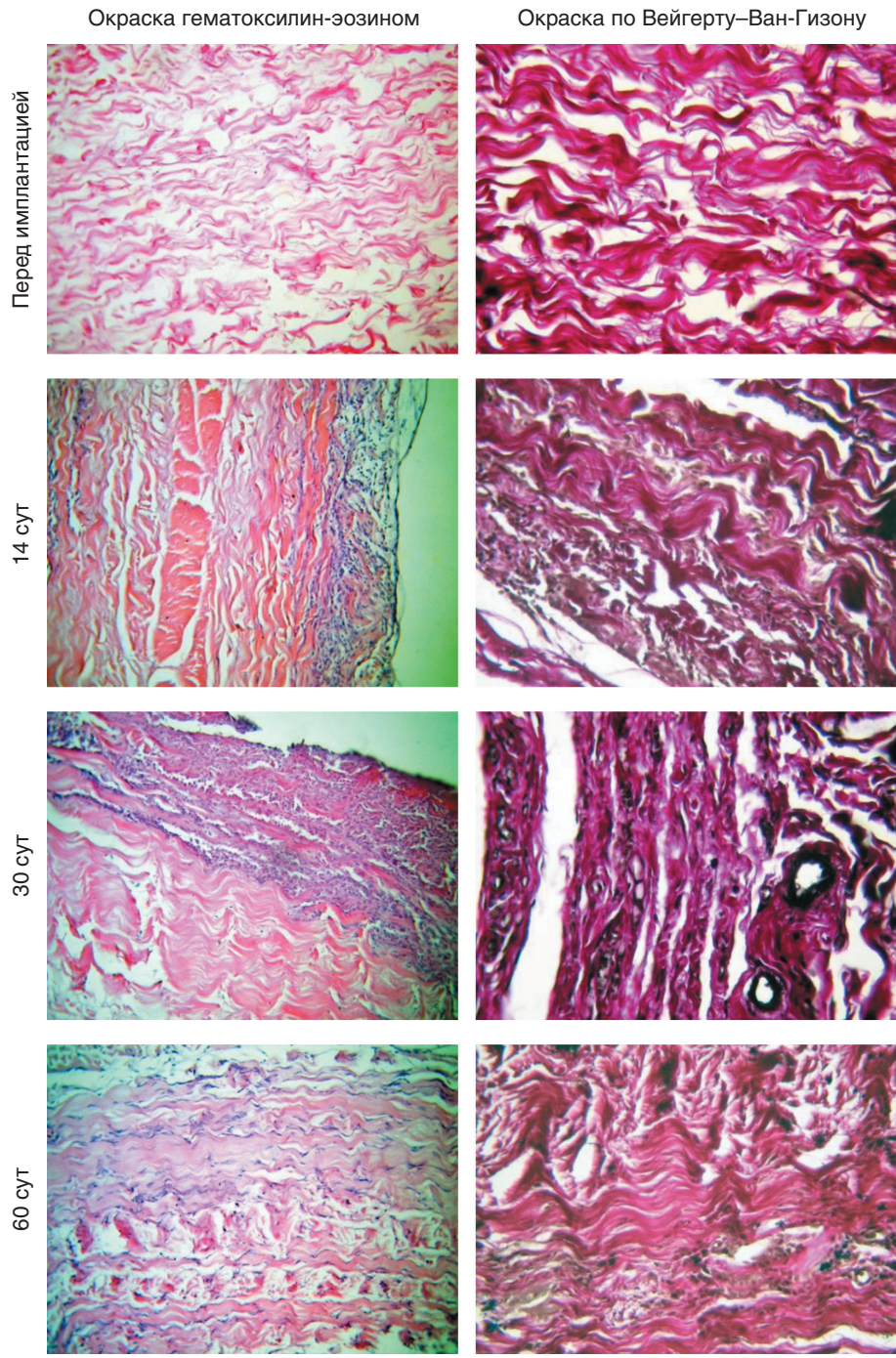


Рис. 4. Гистологические срезы образцов «КБ-I» перед имплантацией и после имплантации на сроках 14, 30 и 60 сут (окраска гематоксилин-эозином и по Вейгерту–Ван-Гизону, ×200)

Биоматериал трансплантата имеет однородную структуру, по наружной поверхности инфильтрирован лимфоцитами и гистиоцитами. Трансплантат окружен выраженным инфильтрационным валом. В составе клеточного инфильтрата выявляются лимфоциты, гистиоциты, плазматические клетки, клетки фибробластического ряда. В зоне непосредственного контакта с биоматериалом превалируют лимфоциты и гистиоциты, на периферии грануляционного вала пролиферирующие фибробласты и очаги новообразованного коллагена. В реактивной зоне вокруг ксеноперикарда определяются новообразованные кровеносные сосуды. При окраске по Вейгерту–Ван-Гизону выявлены формирующиеся собственные коллагеновые и эластические волокна.

60-е сутки. Начинаются явления биорезорбции биоматериала на наружной его поверхности, отмечено практически полное прорастание собственной соединительной ткани и новообразованных сосудов. Отмечается значительное уменьшение количества лимфоцитов и макрофагов в воспалительном инфильтрате. Пролиферирующие фибробласты активно синтезируют соединительно-тканный каркас вокруг трансплантата.

При окраске по Вейгерту–Ван-Гизону выявляется большее количество новообразованных собственных коллагеновых и эластических волокон. Данные изменения свидетельствуют об активном процессе биорезорбции ксеноперикардиальной пластины и интеграции собственной соединительной ткани в пластину ксеноперикарда с последующим его замещением.

Таким образом, отмечено, что процессы биоинтеграции и замещения собственными тканями «Ксеноперикардиального биоматериала I» протекают гораздо медленнее по сравнению с контрольной группой. Кроме того, эсперимантальное исследование подтверждает возможность применения образцов «Ксеноперикардиального биоматериала I» для восстановления целостности и структуры мягкой соединительной ткани.

4.3. Гистологическое исследование образцов «Ксеноперикардиального биоматериала II»

При проведении гистологического исследования (рис. 5) ксеноперикарда, обработанного по Протоколу № 3 перед имплантацией, было выявлено:

- при окраске гематоксилином и эозином клеточные элементы не встречались;
- при окраске по Вейгерту–Ван-Гизону состояние коллагеновых волокон оставалось без изменений; эластические частично разрушены.

14-е сутки. При окраске гематоксилином и эозином 2 образцах отмечена в слабо выраженная лимфоцитарная инфильтрация (на толщину 2/3 от

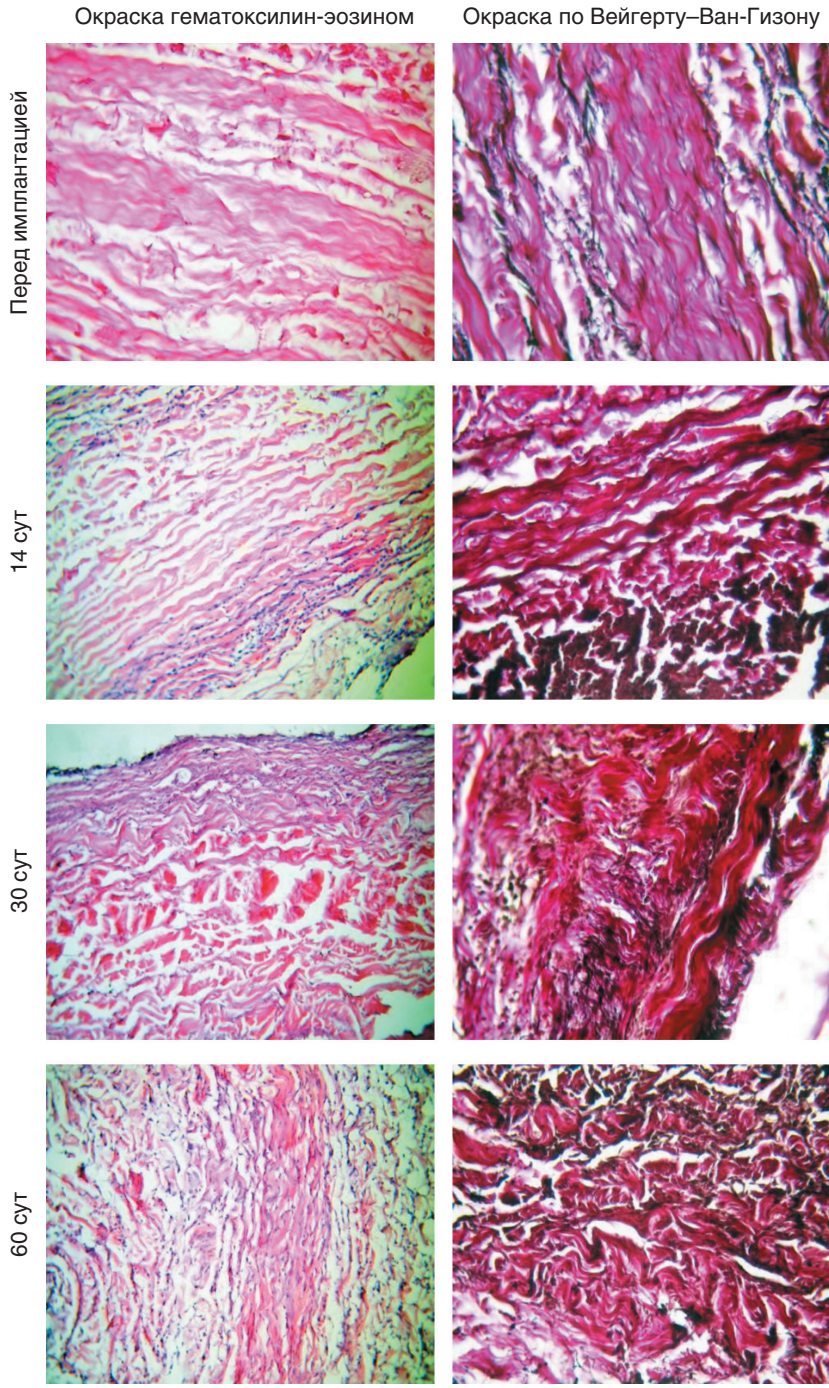


Рис. 5. **Гистологические срезы образцов «КБ-II» перед имплантацией и после имплантации на сроках 14, 30 и 60 сут (окраска гематоксилин-эозином и по Вейгерту–Ван-Гизону, ×200)**

толщины ксеноперикардиальной пластины) с включением эпителиоидных клеток и клеток фибробластического ряда, в одном образце – умеренно выраженная лимфоцитарная инфильтрация. Вокруг образцов ксеноперикарда сохранялась умеренная клеточная инфильтрация, наблюдалось образование грануляционной ткани с умеренным количеством новообразованных сосудов.

При анализе гистологических препаратов, окрашенных по Вейгерту–Ван-Гизону, выявлено разрушение коллагеновых и эластических волокон средней степени выраженности, что свидетельствует об активных процессах биорезорбции и биоинтеграции в ткань реципиента исследуемого объекта.

30-е сутки. В тканевом ложе трансплантата отмечаются выраженные пролиферативные процессы. Биоматериал трансплантата имеет однородную структуру, по наружной поверхности инфильтрирован лимфоцитами и гистиоцитами. Трансплантат окружен слабо выраженным инфильтрационным валом. В составе клеточного инфильтрата выявляются лимфоциты, гистиоциты, плазматические клетки, клетки фибробластического ряда. В зоне непосредственного контакта с биоматериалом превалируют лимфоциты и гистиоциты, на периферии грануляционного вала – пролиферирующие фибробласты и очаги новообразованного коллагена. В реактивной зоне вокруг ксеноперикарда определяются новообразованные кровеносные сосуды. При окраске по Вейгерту–Ван-Гизону выявлены формирующиеся собственные коллагеновые и эластические волокна.

60-е сутки. Начинает проявляться биорезорбция биоматериала на наружной его поверхности, отмечено практически полное прорастание собственной соединительной ткани и новообразованных сосудов. Отмечается значительное уменьшение количества лимфоцитов и макрофагов в воспалительном инфильтрате. Пролиферирующие фибробласты активно синтезируют соединительно-тканный каркас вокруг трансплантата.

При окраске по Вейгерту–Ван-Гизону выявляется большее количество новообразованных собственных коллагеновых и эластических волокон. Данные изменения свидетельствуют об активном процессе биоинтеграции ксеноперикардиальной пластины и интеграции собственной соединительной ткани в пластину ксеноперикарда с последующим его замещением.

Таким образом, отмечено, что процессы биоинтеграции и замещения собственными тканями «Ксеноперикардиального биоматериала II» протекают значительно активнее по сравнению с контрольной группой. Кроме того, отсутствие иммунных реакций и явления отторжения имплантата подтверждает возможность применения образцов «Ксеноперикардиального биоматериала II» для восстановления целостности и структуры мягкой соединительной ткани.

Глава 5. Оценка функциональных свойств разработанных ксеноперикардиальных биоматериалов в условиях *in vivo*

Оценку функциональных свойств биоматериала «КБ-I» проводили путем сравнительного анализа интеграции полипропиленовой сетки и ксеноперикарда в ткани экспериментального животного. Изучение процесса роста соединительной ткани в зоне имплантации проводили путем подсчета количества соединительно-тканных клеточных элементов (фибробластов и фиброцитов), а также площади коллагеновых и эластиновых волокон через 3, 6 и 12 мес. после имплантации (табл. 2).

Количество фибробластов в зоне имплантации полипропиленовой сетки через 3 мес. после имплантации составило 99,29 ± 10,34, через 6 мес. – увеличение до 180,11 ± 8,47, через 12 мес. – резкое уменьшение до 60,27 ± 4,76. Количество фибробластов в зоне имплантации ксеноперикардиального биоматериала через 3 и 6 мес. после имплантации превысило количество фибробластов и фиброцитов в зоне имплантации сетки на 34,25 и 29,93% соответственно ($p < 0,05$). Через 12 мес. после

Таблица 2

Количество клеток (клетки в поле зрения) и относительная площадь компонентов соединительной ткани в зоне имплантации полипропиленовой сетки и ксеноперикардиального биоматериала в разные сроки после операции

Срок (мес.)	Материал	Фибробласты (ФБ)	Фиброциты (ФЦ)	ФБ/ФЦ	S (общ), %	S (к), %	S (э), %
3	ППС	99,29 ± 10,34	69,74 ± 4,86	1,42	49,35 ± 2,78	35,17 ± 3,21	14,18 ± 2,12
	КБ-I	151,01 ± 9,67	79,43 ± 5,32	1,9	55,89 ± 2,81	40,37 ± 3,03	15,52 ± 2,29
	p	<0,05	<0,05	–	<0,05	<0,05	<0,05
6	ППС	180,11 ± 8,47	99,49 ± 8,25	1,81	54,22 ± 3,18	38,73 ± 1,47	15,49 ± 3,38
	КБ-I	257,06 ± 14,60	98,70 ± 10,25	2,6	62,78 ± 1,35	45,87 ± 1,99	16,91 ± 2,03
	p	<0,05	>0,05	–	<0,05	<0,05	<0,05
12	ППС	60,27 ± 4,76	59,96 ± 4,50	1	63,03 ± 2,15	45,12 ± 1,29	17,91 ± 2,14
	КБ-I	350,48 ± 19,33	252,74 ± 18,44	1,39	78,18 ± 2,09	53,27 ± 1,22	24,91 ± 1,71
	p	<0,05	<0,05	–	<0,05	<0,05	<0,05

Примечание. ППС – полипропиленовая сетка; КБ – ксеноперикардиальный биоматериал; S (общ) – общая площадь волокон; S (к) – площадь коллагеновых волокон; S (э) – площадь эластических волокон; p – достоверность различий между группами.

операции вокруг ксеноперикардиального имплантата количество фибробластов продолжало увеличиваться, превысив аналогичный показатель в зоне сетки на 82,8% ($p < 0,05$). Через три месяца количество фиброцитов в зоне имплантации полипропиленовой сетки составило 69,74 ± 4,86 ед., через 6 мес. возросло до 99,49 ± 8,25 ед., а через 12 мес. после операции наблюдалось снижение количества клеток до 59,96 ± 4,50 ед. При анализе количества фиброцитов в зоне имплантации ксеноперикарда было выявлено, что спустя три месяца после имплантации число клеток превышает аналогичный показатель, полученный вокруг сетки, на 12,12%, а к году уже на 76,28% ($p < 0,05$). Соотношение фибробластов и фиброцитов, говорящее об активности синтетических процессов через шесть месяцев после имплантации в тканях, окружающих ксеноперикард, на 30,4% превосходило аналогичный показатель, полученный в тканях вокруг полипропиленовой сетки. Кроме того, спустя три месяца после операции отмечали прорастание соединительно-тканных волокон в ксеноперикардиальный имплантат, в то время как в зоне полипропиленовой сетки рыхлые коллагеновые и эластические волокна свободно лежали вокруг нитей сетки. Спустя 12 мес. после имплантации лишь часть нитей полипропиленовой сетки была оплетена соединительно-тканными волокнами, часть волокон полипропиленовой сетки была инкапсулирована. Ткань ксеноперикарда резорбировалась, волокна истончались и замещались собственными коллагеновыми и эластическими волокнами животного. Через 12 мес. после имплантации граница между имплантатом и соединительной тканью стиралась. Биоматериал полностью пророс собственной тканью животного. Площадь коллагеновых и эластических волокон в области имплантации ксеноперикарда превышала аналогичный показатель в области полипропиленовой сетки через 3 и 6 мес. на 11,7 и 13,63% соответственно ($p < 0,05$). Через год после имплантации увеличение площади соединительной ткани вокруг ксеноперикарда превосходило площадь вокруг сетки на 19,38% ($p < 0,05$). Активность процесса новообразования соединительной ткани в месте имплантации ксеноперикардиального биоматериала через год после операции превосходит на 25% аналогичный показатель, полученный в тканях вокруг полипропиленовой сетки.

Оценку функциональных свойств биоматериала «КБ-II» проводили путем размещения его образца в теле мочевого пузыря гладкой поверхностью в просвет пузыря, ворсинчатой – к брюшине. За время наблюдения отторжения материала и развития инфекционных или иных осложнений не отмечено. Через 6 месяцев после имплантации отмечена умеренная нейтрофильная инфильтрация в зоне оперативного вмешательства (рис. 6).

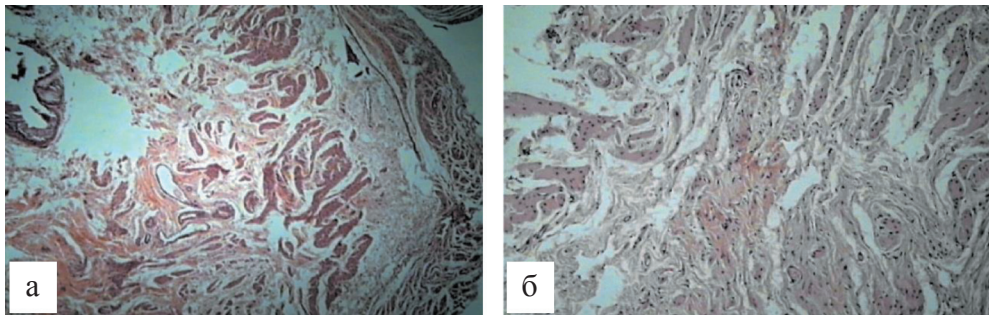


Рис. 6. **а – фрагменты ксеноперикардиального биоматериала в стенке мочевого пузыря через 6 мес. ×40; б – отсутствие нейтрофильной и макрофагальной инфильтрации в зоне имплантации ксеноперикардиального биоматериала через 1 год. ×100. Окраска гематоксилин-эозином**

Через год в препаратах нейтрофильная и макрофагальная инфильтрация отсутствуют. Вокруг ксеноперикарда определяется грануляционная ткань с новообразованными сосудами. В зоне имплантации ксеноперикардиальной пластины полностью отсутствуют признаки воспаления. Видны участки новообразованной соединительной ткани, практически полностью проросшая ткань ксеноперикарда. Слизистая оболочка полностью восстановлена.

Инертные свойства позволяют ксеноперикардиальному биоматериалу адаптироваться к ткани мочевых путей, и пройдя этап асептического воспаления, в течение полугода он полностью замещается собственной соединительной тканью. Как видно из эксперимента, под воздействием мочи полностью перестраивается коллагеновая структура ксеноперикардиального биоматериала и появляется эпителизация со стороны слизистой оболочки. Полученные результаты говорят о перспективах применения ксеноперикардиального биоматериала в этой области. Исследования продолжаются.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Восстановление поврежденных тканей человека – одна из наиболее актуальных проблем в реконструктивной хирургии. Актуальность обусловлена тем, что восстановление дефектов тканей не представляется возможным без применения пластического материала. Разнородность строения и функций тканей, подвергающихся протезированию, диктуют требования к имплантатам. До сих пор продолжается поиск оптимальных материалов для протезирования, удовлетворяющих требованиям оперативного вмешательства в той или иной области хирургии. Вместе с тем уже на протяжении нескольких десятилетий в хирургии сердца и

сосудов широко применяется ксеноперикард, который доказал свою высокую эффективность в этой области медицины. К сожалению, разработчики и производители ксеноперикарда ориентированы только на рынок сердечно-сосудистой хирургии и не заинтересованы в диверсификации производства и освоении новых областей, например общей хирургии, урогинекологии, нейрохирургии, тканевой инженерии и других. Первые экспериментальные исследования по возможности применения ксеноперикардиальной ткани в этих областях показали перспективность данного подхода и большой потенциал разработки в этом направлении.

В настоящем исследовании была предпринята попытка создания биоматериалов с заданными свойствами из ксеноперикардиальной ткани для протезирования широкого спектра пораженных мягких тканей. На основе сформулированных требований к имплантатам были разработаны протоколы обработки биоткани, и в результате получены четыре вида биоматериала, характеризующиеся разными физико-механическими свойствами и скоростью биорезорбции. Исследования местного действия ксеноперикардиальных биоматериалов после имплантации в ткани животных доказали безопасность их применения, а начатые медико-биологические исследования разрабатываемых материалов в клинической практике показывают их эффективность.

ВЫВОДЫ

1. На основе анализа имеющихся подходов к созданию биосовместимых материалов для восстановительно-реконструктивной хирургии и результатов собственных экспериментальных исследований разработана оригинальная методика химико-ферментативной обработки ксеноперикардиальной ткани.
2. Доказано, что параметры ключевых стадий многостадийной химико-ферментативной обработки ксеноперикарда (концентрация фермента, температура ферментативной инкубации, инкубация в средах с разным осмотическим давлением, концентрация сшивающего агента) существенно влияют на структурные свойства биоткани.
3. Разработаны два протокола с оптимальными режимами химико-ферментативной обработки ксеноперикардиальной ткани, позволяющие получить биоматериалы с заданными физико-механическими и биорезорбируемыми свойствами.
4. В зависимости от выбранного протокола обработки ксеноперикарда биоматериалы различаются по модулю упругости в ~ 2 раза, напряжением при растяжении при максимальной нагрузке ~ 1,7 раза и относительным удлинением при растяжении ~ 1,3 раза.
5. Показана возможность получать ксеноперикардиальные биоматериалы с разной скоростью резорбции. Потеря массы образцов биома-

териалов после 8 нед. инкубации в модельной среде реактива Фентона (pH = 7,4), моделирующего воспалительную реакцию организма на инородное тело, изменяется от ~40 до 80%. Показано, что после обработки ксеноперикарда глутаровым альдегидом более высокой концентрации скорость резорбции биоматериала снижается. Обнаружено существенное уменьшение скорости резорбции всех биоматериалов после двух недель инкубации в окисляющей среде, однако биоматериалы теряют массу в этот период с разной скоростью.

6. Сравнительное гистологическое изучение области имплантации ксеноперикардиальных биоматериалов в подкожной жировой клетчатке крыс, а также анализ морфологических признаков-критериев, отражающих дистрофические, воспалительные и репаративные процессы в операционной ране, свидетельствуют об ослаблении воспалительного процесса (уменьшение лимфогистиоцитарной инфильтрации, лимфоцитов, макрофагов) к 30-м сут после операции, а также заметном усилении и ускорении репаративного компонента (увеличение количества клеток фибробластического ряда) с 30-х сут для образцов разработанных биоматериалов.
7. Доказано, что независимо от режима обработки биоткани разработанные ксеноперикардиальные биоматериалы обладают высокими биосовместимыми свойствами: не вызывают реакции отторжения при имплантации, биорезорбция имплантата в условиях *in vivo* сопровождается замещением новообразованной тканью животного и процессами неоваскуляризации.
8. На экспериментальных моделях имплантации в условиях *in vivo* в брюшную стенку и стенку мочевого пузыря доказаны высокие адаптационные и интеграционные свойства разработанных ксеноперикардиальных биоматериалов к мягким тканям.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Имплантаты из «Ксеноперикардиального биоматериала I» предполагается преимущественно использовать в качестве материала, замещающего ткани, подверженные механической нагрузке, например, в реконструктивных операциях для пластики дефектов сухожильно-связочных структур, герниопластике, гинекологии, а также в антирефлюксной хирургии.
2. Имплантаты из «Ксеноперикардиального биоматериала II» предполагается использовать преимущественно в качестве материала, замещающего ткани, не подверженные механической нагрузке, например в реконструктивных операциях для протезирования твердой мозговой оболочки, укрытия культи почки, пластике мочевого пузыря, мочеточников, корпоропластике при болезни Пейрони.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи и материалы конференций

1. *Баулин А.В., Середин С.А., Квасов А.Е.,* ***Венедиктов А.А.*** Ксеноперикардиальная герниопластика: возможности и перспективы // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2011. – № 5. – Т. 1. – С. 26–32.
2. *Баулина О.А., Вихрев Д.В., Федорова М.Г., Баулин А.В., Баулин В.А.,* ***Венедиктов А.А.*** Изучение перспективы применения ксеноперикардиальной пластины в урогинекологии // Фундаментальные исследования. Медицинские науки. – 2012. – № 10. – С. 20–24.
3. *Баулина О.А., Вихрев Д.В., Федорова М.Г., Баулин А.В., Баулин В.А.,* ***Венедиктов А.А.*** Внедрение ксенобиоматериалов в герниологию и урогинекологию // Фундаментальные исследования. Медицинские науки. – 2012. – № 10. – С. 228–231.
4. ***Венедиктов А.А.****, Живаева Л.В., Никишин Д.В., Генгин М.Т., Евдокимов С.В.* Получение бесклеточного материала сухожилия теленка с целью создания протеза передней крестообразной связки // Известия ПГПУ. Естественные науки. – 2012. – № 29. – С. 280–284.
5. *Гамзин С.С., Кручинина А.Д.,* ***Венедиктов А.А.****, Генгин М.Т.* Сравнительное исследование биомеханических свойств говяжьего ксеноперикарда после различных обработок // Известия ПГПУ. Естественные науки. – 2012. – № 29. – С. 25–29.
6. *Митрошин А.Н., Баулина У.В., Щербаков М.А.,* ***Венедиктов А.А.*** Пластика сухожилий сгибателей пальцев кисти протезом «Кардиоплант» // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2012. – № 2 (41). – Т. 15. – С. 67–68.
7. *Калмин О.В., Живаева Л.В.,* ***Венедиктов А.А.****, Никишин Д.В., Фуки В.К., Генгин М.Т.* Изучение *in vivo* свойств ксеноперикарда, прошедшего различную обработку химико-ферментативным методом // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. Теоретическая медицина. – 2013. – № 2 (26). – С. 15–26.
8. *Муйземнек А.Ю., Евдокимов С.В.,* ***Венедиктов А.А.****, Живаева Л.В., Будникова Ю.А.* Исследование влияния технологических параметров на механические свойства ксеноперикардиальных пластин // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2013. – № 3. – С. 21–33.
9. *Никольский В.И., Калмин О.В., Титова Е.В.,* ***Венедиктов А.А.****, Федорова М.Г.* Клинико-морфологическое обоснование ксенопластики вентральных грыж // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 1. – С. 11–17.
10. *Ivanov A., Glamazda S.,* ***Venediktov A.****, Fuki V.* Thirty years of the surgical use of a cell-free biological and plastic material to treat congenital heart, acquired heart

and great vessel diseases. FGBU FNC of Transplantology and artificial organs, named after academic Shumakov V.I. 21st Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery in 2013. – Kobe, Japan.

11. *Mitroshin A., Baulina U.,* ***Venediktov A.****, Shcherbakov M.* Cardioplant. New in plastic tendon operation // Poster Presentation FESSH. – 2012.
12. ***Венедиктов А.А.****, Генгин М.Т., Евдокимов С.В.* Современное состояние проблемы химико-ферментативной обработки ксеноперикардиальной ткани // Фундаментальные исследования в Пензенской области: состояние и перспективы. Материалы научно-практической конференции. – С. 26–28.
13. *Живаева Л.В.,* ***Венедиктов А.А.****, Евдокимов С.В., Фуки В.К., Генгин М.Т., Гамзин С.С., Кручинина А.Д.* Сравнительное исследование физико-механических характеристик ферментативно-химически обработанных биоматериалов ксеногенного происхождения // Материалы региональной конференции «Исследования и инновационные разработки в сфере медицины и фармакологии». – Пенза, 2011. – С. 45–49.
14. *Митрошин А.Н., Абдуллаев А.К.,* ***Венедиктов А.А.*** *и соавт.* Возможности и результаты применения ксеноперикарда при повреждении сухожилий и связок. Инновационные имплантаты в хирургии: сб. тр. Ч. 3. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; ISBN 978-5-7982-0325-3. – 2014. – С. 187–192.
15. *Баулина У.В., Сиваконь С.В., Митрошин А.Н.,* ***Венедиктов А.А.*** *и соавт.* Анализ результатов лечения пациентов после пластики сухожилий сгибателей пальцев кисти ксеноперикардиальным протезом. Инновационные имплантаты в хирургии: сб. тр. Ч. 3. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; ISBN 978-5-7982-0325-3. – 2014. – С. 183–187.
16. *Никольский А.В., Башков В.А.,* ***Венедиктов А.А.*** *и соавт.* Применение ксенопластики в урологии, андрологии и урогинекологии (пилотное исследование). Инновационные имплантаты в хирургии: сб. тр. Ч. 3. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; ISBN 978-5-7982-0325-3. – 2014. – С. 193–196.
17. *Баулина О.А., Баулин В.А.* ***Венедиктов А.А.*** *и соавт.* Первый опыт применения ксеноперикардиальной ленты в антирефлюксной хирургии. Инновационные имплантаты в хирургии: сб. тр. Ч. 3. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; ISBN 978-5-7982-0325-3. – 2014. – С. 168–172.
18. *Никольский В.И., Титова Е.В. и соавт.* Опыт применения ксеноперикарда «Кардиоплант» при послеоперационных вентральных грыжах. Инновационные имплантаты в хирургии: сб. тр. Ч. 3. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; ISBN 978-5-7982-0325-3. – 2014. – С. 196–199.
19. *Никольский В.И., Янгуразова Е.В. и соавт.* Возможность использования ксеноперикарда для формирования лапаростомы. Инновационные имплантаты в хирургии: сб. тр. Ч. 3. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН; ISBN 978-5-7982-0325-3. – 2014. – С. 199–201.

Патенты

1. Заявка на патент на изобретение «Способ модификации биоткани для протезирования» (отчет об информационном поиске от ФГУ «ФИПС» № 2012150213/13 (080348) от 16 июля 2013 г.).
2. Заявка на патент на изобретение «Биологический эндопротез для хирургического лечения недержания мочи при напряжении» (экспертиза по существу по заявке № 2011150608/14(075954) от 03.08.2012 г.).

Головинский Сергей Владимирович

МНОГОФАКТОРНАЯ ОЦЕНКА И ЗАЩИТА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЛЕГКИХ У ДОНОРОВ СО СМЕРТЬЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

Работа выполнена в ГБУ здравоохранения г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы»

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор **Хубутия Могели Шалвович**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время трансплантация от живого или умершего человека является единственным радикальным методом излечения терминальных заболеваний таких жизненно важных органов, как сердце, печень, почки и легкие (Karam V.H. et al., 2003). Появление новых лекарственных средств и инструментально-лабораторных методов, контролирующих состояние и функцию пересаженных органов, позволяет добиться высокого качества и значительной продолжительности жизни пациентов после трансплантации легких (ТЛ) (Tilney N.L., 2003; Bugge J.F., 2009). По данным Международного общества трансплантации сердца и легких, ежегодно в мире выполняется более 3500 ТЛ, при этом 5-летняя выживаемость составляет от 50 до 70%, в зависимости от нозологической формы

патологии легких у реципиента (Christie J.D. et al., 2011; Christie J.D. et al., 2012).

Основным ограничивающим фактором в развитии ТЛ является значительное несоответствие количества доноров существующей потребности в них (Готье С.В. с соавт., 2013; Bhorade S.M. et al., 2000; Ware L.B. et al., 2002; Orens J.B. et al., 2003; Banner N.R. et al., 2003; Corris P.A., 2003; Lynch J.P.III et al., 2006; Botha P., 2009; van Raemdonck D. et al., 2009; Reyes K.G. et al., 2010; Mariani A.W. et al., 2012; Porro G.A. et al., 2012). По данным литературы, менее 20% посмертных доноров могут быть эффективными донорами легких (Toledo-Pereyra L.H., 2010; Vingeswaran W.T. et al., 2010).

Осложнения раннего послеоперационного периода после ТЛ связаны также и с состоянием донорского органа, что диктует необходимость использования только «идеальных» доноров, у которых отсутствуют патологические изменения при ФБС, имеют место удовлетворительный показатель оксигенации и нормальная рентгенологическая картина легких, а также которые строго соответствуют по ряду других клинических параметров (de Perrot M. et al., 2005). С другой стороны, высокий показатель смертности в листе ожидания трансплантации легких определяет потребность в увеличении эффективности донорства легких, то есть использовании органов от максимального количества доноров, в том числе и не соответствующих критериям «идеальности» (van Raemdonck D. et al., 2009). Адекватная оценка потенциального донора и применение индивидуального протокола мероприятий по защите трансплантата позволяют использовать доноров с «расширенными показаниями», которые имеют относительные противопоказания по данным комплексного обследования, с удовлетворительными показателями ближайшей и отдаленной выживаемости реципиентов (Snell G.I. et al., 2011).

Несмотря на значимый вклад русских ученых, таких как В.П. Демихов (Демихов В.П., 1960), в экспериментальную разработку вопросов пересадки легкого, история клинической ТЛ в России не получила широкого развития. За 20 лет (с 1991-го по 2011 г.) в РФ было выполнено не более 10 подобных операций, абсолютное большинство из которых имели неудачный результат (Акчурин Р.С. с соавт., 1991; Левашов Ю.Н. с соавт., 1998; Яблонский П.К., 1999; Чучалин А.Г., 2008). В 2011 г. на базе НИИ скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы начата долговременная научно-практическая программа совместно с НИИ пульмонологии ФМБА России, основная цель которой заключается в организации в городе Москве эффективной системы оказания помощи пациентам с хроническими заболеваниями легких в терминальной стадии методом трансплантации.

Таким образом, основным фактором, ограничивающим количество выполняемых в мире ТЛ, является дефицит донорских органов. Способы

решения этой проблемы заключаются, с одной стороны, в совершенствовании систем оценки потенциальных доноров легких, а с другой – в разработке организационных и медицинских мероприятий, направленных на защиту и/или восстановление структурно-функционального состояния донорских легких, что позволит увеличить эффективность их использования. Учитывая отсутствие в российской медицине значимого клинического опыта в ТЛ, разработка этих вопросов и адаптация их решений к отечественным условиям является актуальной научно-исследовательской задачей.

Степень разработанности темы исследования

В российской научной медицинской литературе вопросы органного донорства представлены небольшим количеством публикаций, а работы, которые посвящены посмертным донорам легких, – единичны. В современной российской трансплантационной практике отсутствуют методические рекомендации и научно-практические исследования, посвященные оценке пригодности легких для трансплантации у доноров со смертью головного мозга (СГМ) и методам защиты легочного трансплантата.

Цель исследования. Разработать принципы отбора доноров с СГМ и технологию сохранения структурной и функциональной целостности их легких с целью эффективного донорского обеспечения ТЛ.

Задачи исследования

1. Определить роль лабораторно-инструментальных методов исследования в оценке пригодности легких донора с СГМ для трансплантации.
2. Разработать алгоритм этапной комплексной оценки пригодности легких у доноров с СГМ для трансплантации.
3. Определить оптимальную технологию защиты структурно-функционального состояния донорских легких на различных этапах: во время кондиционирования донора, во время операции мультиорганного изъятия, на этапе фармако-холодовой консервации.
4. Оценить ранний послеоперационный период после клинической ТЛ в контексте анализа качества использованных донорских органов.

Научная новизна

Впервые изучен пул доноров с СГМ в городе Москве с позиции возможностей легочного донорства. Предложена эффективная модель организации донорского обеспечения пересадки легких, основанная на принципах трансплантационной координации, на конкретном примере взаимодействия учреждений в городе Москве. Определены методология и последовательность оценки пригодности легких у доноров с СГМ.

Разработана усовершенствованная система балльной оценки донорских легких. Установлено критическое значение суммы баллов, свидетельствующее о ненадлежащем качестве донорского органа. Проведен анализ непосредственных результатов наибольшего в российской медицинской практике опыта клинической ТЛ.

Практическая значимость

Разработан алгоритм эффективного отбора доноров с СГМ для ТЛ, учитывающий отечественную систему организации органного донорства. Описан протокол медицинских мероприятий, ориентированный на оптимальную защиту структурно-функционального состояния легких в организме донора с СГМ. Описаны хирургическая техника изъятия, метод фармако-холодовой консервации, подготовки и восстановления легочного трансплантата, основанные на собственном клиническом опыте трансплантации легких.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Главная роль в определении пригодности донорских легких для трансплантации принадлежит ФБС. Вторым по значимости является рентгенологическое исследование легких.
2. Вся совокупность критериев оценки посмертного донора легких может быть разделена на 2 группы: исключающие и оценивающие. Исключающие критерии (такие как возраст донора более 65 лет, продолжительность ИВЛ более 5 сут и т. д.) категоричным образом характеризуют пригодность донорских легких для трансплантации.
3. Оценивающие критерии, такие как индекс оксигенации (ИО), степень выраженности инфильтративных изменений по данным рентгенографии груди, наличие и цитологическая характеристика гнойной мокроты, степень эндобронхита, продолжительность ИВЛ, возраст донора, анамнестические факторы риска (курение, травма груди) целесообразно анализировать в рамках предложенной балльной шкалы, что повышает объективность результирующей оценки.
4. Учитывая принципы донорской координации, стадии посмертного органного донорства, а также ценность различных лабораторно-инструментальных методов клинического исследования, в оценке трупного донора легких с СГМ необходимо выделять 4 этапа: начальной, предварительной, окончательной и завершающей оценки.
5. Начальную оценку могут осуществлять сотрудники донорских баз или учреждений, осуществляющих координацию органного донорства. Предварительную, окончательную и завещающую оценку должны проводить врачи специализированной (легочной) донорской бригады.

6. Предложенный алгоритм и разработанные протоколы медицинского сопровождения донора легких, техники изъятия и способа фармако-холодовой консервации легочного трансплантата позволяют эффективным образом организовать донорский этап ТЛ с удовлетворительным послеоперационным результатом у реципиентов.

Апробация работы

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены: на научно-практическом симпозиуме с международным участием «Современные аспекты кардиоторакальной хирургии», 17 марта 2012 г. (Санкт-Петербург); XXII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания, 23–26 октября 2012 г. (Москва); на интернет-портале internist.ru в рамках Интернет-сессии «Аспирантские субботы академика РАМН А.Г. Чучалина», 25 мая 2013 г.; III Международном конгрессе «Актуальные направления современной кардиоторакальной хирургии», 23–30 июня 2013 г. (Санкт-Петербург); XXIII ежегодном конгрессе Европейского респираторного общества, 7–11 сентября 2013 г. (Барселона); XXIII Национальном конгрессе по болезням органов дыхания, 22–25 октября 2013 г. (Казань).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 2 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

За двухлетний период, с мая 2011-го по май 2013 г., на предмет пригодности легких для трансплантации в стационарах города Москвы были обследованы 69 трупных доноров, смерть которых установлена на основании диагностики СГМ. У 11 из них легкие были использованы для ТЛ.

Среди доноров анализируемой группы мужчин было в 3 раза больше, чем женщин – 52 и 17 человек соответственно. Средний возраст составил 37 лет (колебания от 22 до 59 лет). Средние значения роста и окружности груди потенциальных доноров мужского пола составили соответственно 179,0 ± 8,2 см и 91,5 ± 6,8 см, а женского – 163,1 ± 4,1 см и 82,1 ± 7,6 см. Распределение доноров по группам крови можно охарактеризовать как соответствующее популяционному в Евразии: I(0) и II(A) – по 36,2%, III(B) – 18,8%, IV(AB) – 8,7%.

Среди потенциальных доноров преобладали те, смерть которых была обусловлена травмой – 47 (68,1%), изолированная травма головного мозга была у 35 (50,7%) человек, а у 12 (17,4%) ЧМТ сочеталась с повреж-

дениями других локализаций. Острое нарушение мозгового кровообращения стало причиной смерти 20 (28,9%) доноров. У остальных 2 (3,0%) СГМ была обусловлена другими причинами.

Все операции у реципиентов проведены по методике последовательной двусторонней трансплантации. В качестве стандартного хирургического доступа использовали двустороннюю передне-боковую торакотомию, дополненную поперечной стернотомией, так называемый ракушкообразный разрез. Характеристика реципиентов и выполненных им операций приведена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика реципиентов и трансплантаций легких, выполненных им в НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского

№ п/п	Пол	Возраст (лет)	Основной диагноз	Продолжительность операции (мин)	ИК / ЭКМО, продолжительность (мин)	Длительность ишемии трансплантатов (мин)	Исход / срок наблюдения
1	Жен.	35	ЛАМ	660	–	400/660	Жива / 24 мес.
2	Муж.	43	ИЛФ	540	–	354/540	Жив / 19 мес.
3	Жен.	28	ИЛГ	780	ИК, 420	410/605	Смерть / 9 дней
4	Жен.	38	ИЛФ	540	–	315/480	Смерть / 38 дней
5	Жен.	24	CF	800	ВА ЭКМО, 440 (27,67 часа)*	410/650	Жива / 14 мес.
6	Жен.	27	CF	675	–	415/620	Жива / 10 мес.
7	Жен.	34	ИЛГ	812	ВА ЭКМО, 575	360/600	Жива / 8 мес.
8	Жен.	55	Саркоидоз	765	ВА ЭКМО, 410 (16 дней)*	310/560	Смерть / 2,5 мес.
9	Муж.	43	Эмфизема (α1Ан)	606	ВА ЭКМО, 20 (23,5 часа)*	300/470	Жив / 3 мес.
10	Муж.	34	ХОБЛ	705	ВА ЭКМО, 165 (21,33 часа)*	390/566	Жив / 2 мес.
11	Муж.	20	Эмфизема	873	ВА ЭКМО, 430	590/805	Смерть / 36 дней

Примечание. * – ЭКМО, начатая во время операции, продолжена в послеоперационном периоде, в скобках указана общая продолжительность ЭКМО.

Подбор пары «донор–реципиент» производили по группе крови в системе АВ0 и антропометрическому соответствию размеров грудной клетки. Все реципиенты получали стандартную иммуносупрессию: ин-

дукционная (Атгам или Симулект) и поддерживающая (Такролимус или Циклоспорин + МП + ММФ) терапия.

Для решения задач комплексной оценки потенциального донора на предмет пригодности его легких для последующей трансплантации на базе НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского была создана специализированная донорская бригада, в которую входили следующие врачи:

1) торакальный хирург;
2) анестезиолог-реаниматолог;
3) врач эндоскопической диагностики;
4) врач цитологической диагностики.

Всю совокупность данных, полученных в результате комплексной оценки трупного донора легких, мы разделили на две группы критериев: исключающие и оценивающие.

Исключающие критерии характеризуются двумя состояниями («есть» или «нет»), одно из которых позволяет продолжить диагностический алгоритм, а второе – прекращает его, констатируя непригодность донора и определяя ее причину. К исключающим критериям отнесли:

1) абсолютные противопоказания к трупному донорству (по М.Г. Мининой, 2007);
2) возраст донора более 65 лет;
3) продолжительность ИВЛ более 5 сут;
4) нарушение целостности легочной ткани (пневмоторакс);
5) констатацию смерти на основании необратимой остановки сердечной деятельности;
6) аспирацию желудочного содержимого в трахеобронхиальное дерево;
7) несовместимость с реципиентом (иммунологическая или антропометрическая);
8) анамнестические данные о перенесенных операциях на легких;
9) признаки тяжелого заболевания или повреждения легких (новообразования, ХОБЛ, эмфизема, пневмония, отек, большие внутрилегочные гематомы и т. п.);
10) признаки заболевания плевры (массивные сращения, новообразования, патологический выпот и т. п.);
11) низкий уровень газообменной функции легких (ИО менее 300 мм рт. ст.);
12) неадекватную отмывку и консервацию трансплантата;
13) повреждение трансплантата.

Особенностью оценивающих критериев является возможность их ранжирования по группам, степени тяжести или выраженности диагностируемого состояния (табл. 5).

Параметром, отражающим структурно-функциональное состояние легочного трансплантата, по которому во всем мире оценивают результат ТЛ в раннем послеоперационном периоде, является степень первичной

дисфункции трансплантата (ПДТ) (табл. 2). У всех реципиентов определяли степень первичной дисфункции легочных трансплантатов в сроки 6, 12, 24, 48 и 72 ч после реперфузии второго трансплантата.

Таблица 2

Рекомендации по определению степени тяжести первичной дисфункции трансплантата (Christie J.D. et al., 2004)

Степень тяжести	ИО	Инфильтративные изменения на рентгенограмме легкого
0	> 300	Отсутствуют
1	> 300	Присутствуют
2	200–300	Присутствуют
3	< 200	Присутствуют

Для оценки общего состояния реципиентов в раннем послеоперационном периоде мы использовали системы APACHE II и SOFA, показатели которых рассчитывались по стандартной методике. С целью оценки влияния качества легочного трансплантата на результат ТЛ анализировали наличие взаимосвязи балльной оценки использованного донора и общего состояния реципиентов, выраженного в баллах APACHE II и SOFA, а также 1- и 2-летнюю выживаемость реципиентов.

В связи с отсутствием в российской медицинской практике большого опыта в ТЛ, за исключением отдельных операций, проведенных в разное время в различных лечебных учреждениях, нами не обнаружено современных отечественных рекомендаций, обзоров или методических пособий по клинической трансплантологии, посвященных медицинскому сопровождению донора с СГМ с позиции защиты легочного трансплантата, а также условиям и методу фармако-холодовой консервации донорского легкого. С целью выработки соответствующих протоколов нами был предпринят систематический обзор исследований последних лет – за 2001–2011 гг. Критерии селекции научных публикаций в биомедицинских журналах и книгах представлены в табл. 3. В целом всю совокупность выбранных литературных источников мы условно разделили на две группы: к первой группе относились данные по медицинскому сопровождению донора, а ко второй – данные по условиям, методу и средствам фармако-холодовой консервации легочного трансплантата.

С целью разработки оптимальной хирургической техники изъятия донорских легких в период с мая 2010-го по май 2011 г. на базе патолого-анатомического отделения НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского проведено 10 анатомических экспериментов по моделированию хирургической операции донорского этапа ТЛ на нефиксированных трупах людей обоих полов. Антропометрические показатели и причина смерти не

Таблица 3

Критерии селекции научных публикаций и книг, посвященных медицинскому сопровождению посмертного донора легких и методам защиты легочного трансплантата

Критерии включения	Критерии исключения
Основная тема	
Трансплантация легких Посмертное донорство легких	Трансплантация и донорство других солидных органов Трансплантация и донорство клеток и комплексных тканей
Вид публикации	
Системные обзоры (в том числе обзоры литературы) Метаанализы Рекомендации и монографии медицинских сообществ Рандомизированные клинические исследования Рецензируемые медицинские издания (книги)	Издания для медицинских сестер и трансплантационных координаторов Экспериментальные исследования Одноцентровые исследования Описания клинических наблюдений Письма редактору
По объекту исследования	
Взрослые люди	Дети Животные
По источнику донорских органов	
Доноры со смертью головного мозга	Родственные доноры Доноры после остановки сердечной деятельности Доноры после использования систем *ex vivo* перфузии и восстановления донорского органа
Другие	
Для книг – наличие отдельной главы либо по медицинскому сопровождению донора со смертью головного мозга, либо по защите донорского легкого	Доноры с гемотрансмиссивными инфекциями или опухолями

учитывались. В ходе экспериментальных операций применялись хирургические приемы, описанные в различных авторских методиках (Васюкевич А.Г., 1991; Дземешкевич С.Л. и соавт., 1993; Шумаков В.И., 2006; Todd T.R. et al., 1988; Sundaresan S. et al., 1993; Hartwig M.G. et al., 2005; Pasque M.K. et al., 2010), которые оценивались с точки зрения простоты и скорости их выполнения. На основании комбинации известных методов с собственными техническими приемами был выработан оптимальный

протокол изъятия легких единым блоком с участком трахеи и прилежащими тканями без пересечения пищевода.

Результаты и их обсуждение

Наиболее частым из исключающих критериев (40,5% от всех отказов на основании исключающих критериев), как и среди всех причин непригодности донорских легких (29,4%), стал факт выявления аспирации желудочного содержимого в трахеобронхиальное дерево, диагностируемого по данным ФБС. Другие причины непригодности легких, которые занимали второе место по частоте (27,6%) среди всех причин отказа от донорства легких, определялись совокупностью данных оценивающих критериев (табл. 4).

Таблица 4

Распределение причин непригодности легких (отказы) от доноров со смертью головного мозга по частоте их выявления

Причины отказа	Абсолютное число доноров	Доля в %
Абсолютные противопоказания к трупному донорству	5	8,6
Возраст донора более 65 лет	0	0
Продолжительность ИВЛ более 5 сут	0	0
Пневмоторакс	1	1,7
Необратимая остановка сердца в ходе оценки пригодности легких	1	1,7
Аспирация желудочного содержимого	17	29,4
Несовместимость с реципиентом	3	5,2
Анамнестические данные о перенесенных операциях на легких	0	0
Заболевания или повреждения легких	8	13,8
Заболевания плевры	0	0
Низкий уровень газообменной функции легких	5	8,6
Неадекватная отмывка и консервация трансплантата	1	1,7
Повреждение трансплантата	1	1,7
Всего отказов на основании исключающих критериев	**42**	**72,4**
Другие причины	16	27,6
Всего	**100**	**172,4**

Для анализа влияния оценивающих критериев на принятие окончательного решения о пригодности легких для последующей трансплантации значения каждого оценивающего критерия ранжировали по методу

T. Oto (Oto T. et al., 2007) в нашей модификации, которая отличается наличием «фактора неопределенности» (если исследование не выполнялось, или если данные неизвестны) и содержит большее количество категорий. Затем подсчитали частоту встречаемости каждого ранга в двух группах доноров: использованных (11 доноров), у которых легкие были изъяты и пересажены реципиенту, и неиспользованных (16 доноров), отказ которым не был обусловлен выявлением исключающих критериев (табл. 5).

Таблица 5

Распределение оценивающих критериев пригодности легких донора с СГМ и их балльных значений в группах использованных и неиспользованных доноров

Оценивающие критерии			Использованные доноры (n = 11)	Неиспользованные доноры (n = 16)
Категория	Параметры	Балл		
Индекс оксигенации, мм рт. ст.	> 450	0	8	6
	351–450	2	3	5
	300–350	4	0	5
Инфильтрация по данным рентгенографии груди	Нет	0	8	1
	Невыраженная	1	3	2
	1 зона	2	0	7
	>1 зоны	3	0	3
	Диффузная	4	0	3
Гнойная мокрота при ФБС	Нет	0	8	1
	Мало	1	3	8
	Много	2	0	7
Степень эндобронхита по данным ФБС	Нет	0	9	0
	1-я степень	1	2	4
	2-я степень	2	0	4
	3-я степень	3	0	8
Выявление Г «–» микроорганизмов по данным цитологии БАЛ	Нет	0	3	2
	Исследование не выполнялось	1	7	12
	Единичные	2	1	1
	Много	4	0	1
Продолжительность ИВЛ, ч	< 24	0	4	3
	24–48	1	4	4
	49–72	2	1	6
	73–96	3	2	1
	> 96	4	0	2

Окончание табл. 5

Оценивающие критерии			Использованные доноры (n = 11)	Неиспользованные доноры (n = 16)
Категория	Параметры	Балл		
Возраст, лет	20–29	0	6	2
	30–39	1	4	5
	40–49	2	1	5
	50–55	3	0	3
	> 55	4	0	1
Курение в анамнезе	Нет	0	4	9
	Неизвестно	1	2	1
	Есть	2	5	6
Закрытая травма груди	Нет	0	10	10
	Ссадины на груди	1	0	1
	Зоны ушиба легкого	2	1	5
Средний балл в группах			5,0	13,88
Стандартное отклонение баллов в группах			± 2,0	± 2,0

В группе использованных доноров средний балл оценивающих критериев был статистически значимо ниже, чем в группе неиспользованных доноров (критерий Стьюдента $t = –11{,}335$; $P < 0{,}001$). В анализируемой популяции доноров наибольшая сумма баллов у доноров, легкие которых были изъяты и пересажены реципиенту, составила 8, наименьшая сумма баллов у доноров, которые были признаны непригодными для донорства легких, – 11.

Принимая во внимание, что описываемая в нашем исследовании популяция доноров является выборочной из некоторой генеральной совокупности всех доноров с СГМ, можно рассчитать 95% доверительные интервалы для суммы баллов в группах использованных и неиспользованных доноров для генеральной совокупности, которые составили соответственно 5,0 ± 4,46 и 13,88 ± 4,26. Наибольшее значение суммы баллов у использованных доноров равно 9,46, наименьшее значение у неиспользованных – 9,62. Таким образом, учитывая, что баллы заданы только целыми числами, значение суммы баллов оценивающих критериев, равное 9, можно считать критическим для определения пригодности легких любого донора с СГМ при условии отсутствия в его оценке исключающих критериев.

Наиболее значимые различия в оценках двух групп доноров были получены по данным рентгенографии ($\chi^2 = 18{,}309$; $P < 0{,}005$) и ФБС (по выявлению гнойной мокроты $\chi^2 = 14{,}258$; $P < 0{,}001$, по оценке степени эн-

добронхита $\chi^2 = 21{,}457$; $P < 0{,}001$). Рентгенологический метод, так же как ФБС, позволяет оценивать структурную целостность легких, при этом в отличие от эндоскопического исследования рентгеновскому доступны периферические отделы легких. Правильно выполненная обзорная рентгенография груди, особенно выполнение этого исследования в динамике, дает возможность получить информацию о патологических изменениях в структуре ткани легких. Безусловно, компьютерная томография в значительной степени повышает информативность такого исследования.

Различия в данных других исследований (бактериоскопия и газовый состав артериальной крови) и данных анамнеза (длительность ИВЛ, курение, возраст, наличие закрытой травмы груди) оказались статистически не значимыми. Однако следует отметить, что абсолютное большинство доноров из использованной группы имели возраст моложе 39 лет (90,9%), продолжительность ИВЛ менее 48 ч и ИО более 450 мм рт. ст. (по 72,7%).

Структурная организация органного донорства в городе Москве подразумевает участие специального учреждения – Московского координационного центра органного донорства (МКЦОД). Функции МКЦОД заключаются в обеспечении связи между донорскими базами и трансплантационными центрами, расположенными в городе Москве, первоначальной оценке донора на предмет абсолютных медицинских и организационных противопоказаний к изъятию органов, определении возможного потенциала донора к мультиорганному изъятию. Таким образом, в оценке любого трупного донора, в том числе и возможного донора легких, может быть выделен начальный этап.

Выделение в алгоритме оценки донора начального этапа, за осуществление которого ответственны сотрудники координационного центра, позволяет в первую очередь оптимизировать работу донорской службы конкретного учреждения, концентрируя внимание специализированной (легочной) бригады на наиболее перспективных донорах. Так, в нашем исследовании основная анализируемая группа доноров ($n = 69$) была сформирована именно на основании начальной оценки, которую проводили сотрудники МКЦОД. Коэффициент используемости в ней составил 15,9% ($n = 11$), показатель которого сопоставим с мировыми данными.

В оценке любого донорского органа можно дополнительно выделить три принципиальных этапа, согласно стадиям донорского процесса:

- изучение состояния органа в организме потенциального донора на основании лабораторных анализов и по данным инструментальных методов исследования, позволяющих косвенно судить о его структурной целостности и функциональном статусе;
- визуальный осмотр и пальпация органа в ходе операции мультиорганного изъятия у актуального донора;
- оценка изолированного трансплантата после его фармако-холодовой консервации и изъятия у эффективного донора.

Учитывая возможности каждой стадии, диагностические мероприятия, выполняемые сотрудниками специализированной («легочной») донорской бригады, разделили на три этапа: предварительный, окончательный и завершающий. Таким образом, был сформирован четырехшаговый алгоритм оценки любого посмертного донора на предмет возможности использования его легких для последующей трансплантации (рис. 1).

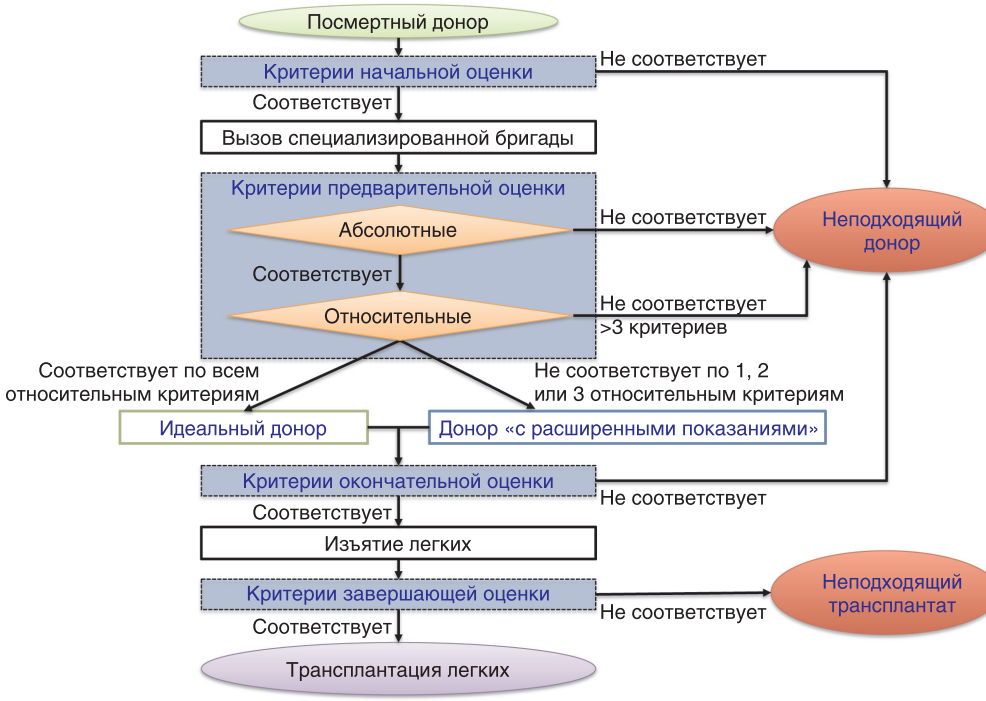


Рис. 1. **Алгоритм оценки трупного донора на предмет возможности использования его легких для трансплантации**

Из 69 обследованных доноров по результатам предварительной оценки 50 (72,5%) признаны неподходящими для донорства легких. В ходе окончательной оценки были выявлены противопоказания еще у 6 (8,7%) доноров. По критериям завершающего этапа 2 (2,9%) двулегочных трансплантата из 13 изъятых расценены как непригодные для пересадки. Таким образом, 58 (84,1%) доноров из исследуемой группы были исключены, а у 11 (15,9%) легкие были использованы для трансплантации.

На рис. 2 отражено наполнение каждого из этапов процесса многофакторной оценки пригодности легких донора с СГМ для трансплантации.

Выделение в предложенном алгоритме окончательного и завершающего этапов помимо очевидной задачи повышения точности оценки пригодности донорских легких к трансплантации решает также и задачу оцен-

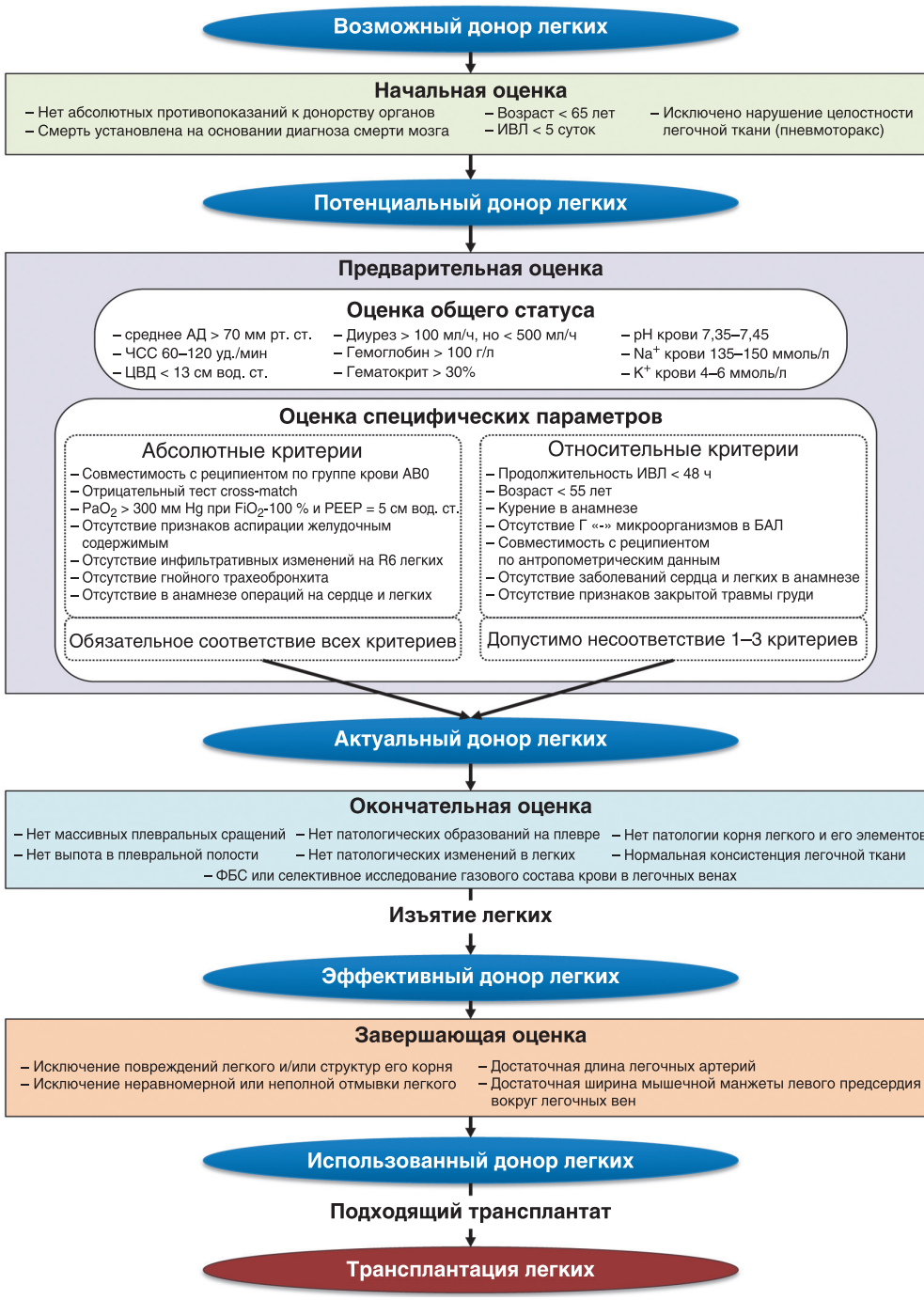


Рис. 2. **Алгоритм многофакторной оценки структурно-функционального состояния легких донора со смертью головного мозга**

ки эффективности исследований предварительного этапа. В настоящем исследовании потери доноров на этапе окончательной и завершающей оценок составили 11,6% (n = 5) в отличие от 72,5% (n = 50) на предварительном этапе, что может свидетельствовать о высокой эффективности селекции доноров уже на основании критериев предварительной оценки.

Предложенный алгоритм не является жестко регламентированным, напротив, он нуждается в дальнейшем совершенствовании путем повышения достоверности диагностических методов, объективизации получаемых данных, применения новых методов оценки. Одним из главных современных направлений в оценке пригодности легких считается технология изолированной (*ex vivo*) перфузии легких, в рамках которой возможно применение методов лечебного воздействия с целью восстановления структурно-функционального состояния легочного трансплантата и проведения дополнительных диагностических исследований, позволяющих точнее определить потенциал конкретного органа для успешной трансплантации.

В приведенном алгоритме выделена возможность использования так называемых доноров с расширенными показаниями. Учитывая тенденцию мировой трансплантационной практики в использовании подобных доноров, в разработанном алгоритме также было определено место и путь для увеличения эффективного объема донорской популяции. Предложенные критерии расширения, безусловно, неспособны кардинально изменить количество потенциальных доноров легких, что обусловлено их незначительным отклонением от строгих критериев «идеального» донора. По мере накопления практического опыта в трансплантации легких целесообразно дальнейшее увеличение диапазона и количества относительных критериев, на основании которых могут быть использованы доноры с пограничной пригодностью.

Другой ценной особенностью предложенного алгоритма считаем его согласованность и взаимодействие с медицинским сопровождением донора с СГМ с целью максимально возможного сохранения структурной целостности донорских легких, с одной стороны, и попытки восстановления их функционального статуса – с другой. Так, первоочередная оценка общего статуса донора на предварительном этапе специально выделена нами для раннего планирования объема и последовательности действий реаниматологом-анестезиологом специализированной донорской бригады с целью стабилизации нарушений не только общего гомеостаза в организме донора, но и улучшения состояния его легких.

Главным критерием оценки эффективности любого метода лечения или лекарственного препарата является конечный результат их применения – в виде улучшения состояния или полного выздоровления курируемого пациента. Правильность выбора и адекватность сохранения свойств легочного трансплантата, безусловно, следует оценивать на основе показателей его функции в организме реципиента, а также общего состояния реципиента в послеоперационном периоде.

Учитывая, что структурно-функциональное состояние легких донора и другие донор-ассоциированные факторы (например, возраст донора, его пол, длительность ИВЛ, характер повреждения головного мозга и т. п.), в первую очередь, реализуют свое негативное воздействие в организме реципиента после трансплантации за счет влияния на развитие первичной дисфункции легочного трансплантата (de Perrot M. et al., 2005), мы оценили степени первичной дисфункции в течение первых суток послеоперационного периода (табл. 6). Таким образом, тяжелая первичная дисфункция трансплантата (3-й степени) в первые 24 ч после реперфузии

Таблица 6

Степень первичной дисфункции легочных трансплантатов у реципиентов в первые 24 часа после реперфузии второго трансплантата

№	6 часов			12 часов			24 часа			$ПДТ_{ср}$
	ИО	Инфильтративные изменения на рентгенограмме	ПДТ	ИО	Инфильтративные изменения на рентгенограмме	ПДТ	ИО	Инфильтративные изменения на рентгенограмме	ПДТ	
1	320	Есть	0	355	Есть	1	329	Есть	1	1
2	338	–	1	238	Есть	2	222	–	2	2
3	69	–	3	60	Есть	3	(ЭКМО) p_aO_2-85,5	–	3	3
4	462	–	0	436	Есть	1	340	–	1	1
5	(ЭКМО) p_aO_2-362	–	3	(ЭКМО) p_aO_2-182	Есть	3	222	Есть	1	2
6	257	Есть	2	360	Есть	1	350	Есть	1	1
7	310	Нет	0	352,5	–	0	347,5	–	0	0
8	(ЭКМО) p_aO_2-90	Есть	3	(ЭКМО) p_aO_2-236	Есть	3	(ЭКМО) p_aO_2-96,4	–	3	3
9	(ЭКМО) p_aO_2-203	Есть	3	(ЭКМО) p_aO_2-228	Есть	3	327,5	–	1	2
10	(ЭКМО) p_aO_2-273	–	3	(ЭКМО) p_aO_2-398	Есть	3	127	Есть	3	3
11	364	Есть	1	306	–	1	436	Есть	1	1

Примечание. Прочерк в столбцах «Инфильтративные изменения на рентгенограмме» означает, что рентгенологическое исследование груди не выполнялось; $ПДТ_{ср}$ – среднее значение степени первичной дисфункции трансплантата за 24 ч (округлено до целого числа).

второго донорского легкого развилась только у 3 (27,3%) реципиентов. У большинства пациентов после трансплантации легких в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского в течение первых суток после трансплантации имела место умеренная степень (1-я и 2-я) первичной дисфункции – 7 (63,6%) человек, что может свидетельствовать о хорошем качестве использованных легочных трансплантатов.

Для определения влияния качества легочного трансплантата на степень его первичной дисфункции в раннем послеоперационном периоде мы оценили корреляционную взаимосвязь между средним балом оценивающих критериев предварительной оценки из группы использованных доноров и средним показателем степени ПДТ за 1 сутки послеоперационного периода (табл. 7). При этом взаимосвязь этих показателей оказалась статистически не значимой (коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r_s = –0,243$; $P = 0,5$). Также мы оценили взаимосвязь качества легочного трансплантата и общего состояния реципиентов в раннем послеоперационном периоде (по шкалам APACHE II и SOFA) (табл. 7). При этом не выявлено статистически значимой корреляции: для APACHE II $r_s = 0,136$ ($P > 0,5$), для SOFA $r_s = 0,093$ ($P >> 0,5$). Таким образом, можно заключить, что в анализируемой группе реципиентов степень первичной дисфункции легочного трансплантата определялась в большей степени факторами операционной травмы или другими реципиент-ассоциированными факторами.

Таблица 7

Сравнение показателей качества легочного трансплантата и показателей тяжести раннего послеоперационного периода после трансплантации легких

№	ОЛД	$ПДТ_{ср}$	APACHE II	SOFA
1	5	1	10	11
2	6	2	11	5
3	1	3	28	16
4	5	1	21	12
5	4	2	14	10
6	2	1	24	12
7	8	0	28	14
8	5	3	38	17
9	5	2	24	16
10	6	3	29	16
11	8	1	20	13

Примечание. ОЛД – оценка легочного донора на основании среднего балла оценивающих критериев; баллы шкал APACHE II и SOFA рассчитаны на 1 сут послеоперационного периода после трансплантации легких.

Для оценки влияния качества легочного трансплантата на отдаленный результат трансплантации легких мы сравнили результат оценки использованных легких в группах выживших и умерших реципиентов за анализируемый двухлетний период. При этом среднее значение оценочных критериев в группе переживших двухлетний период составило 5,14 ± 1,73 балла, а в группе умерших – 4,75 ± 2,49 балла. При статистическом анализе различия оказались незначимыми (критерий Стьюдента $t = 0,309$; $P > 0,5$).

Все смерти в анализируемой группе реципиентов имели место в раннем периоде, в течение 2,5 мес. 1- и 2-летняя выживаемость по методу Каплана–Мейера составила 63,6% (рис. 3).

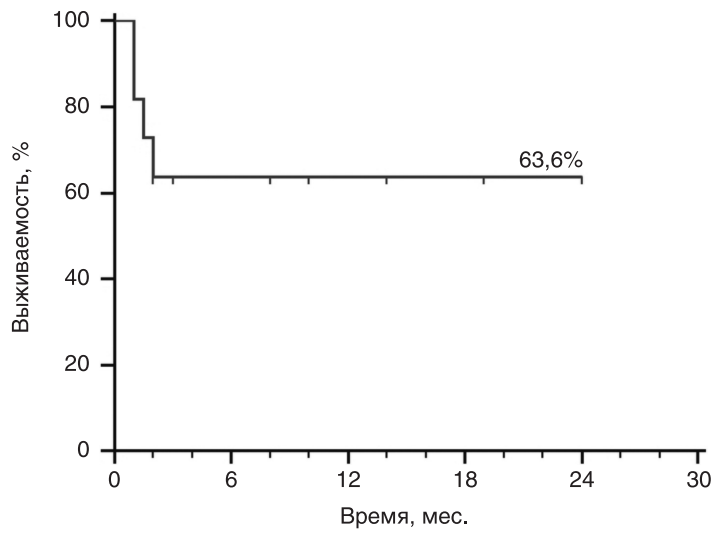


Рис. 3. **График выживаемости реципиентов после трансплантации легких, выполненной в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского (по методу Каплана–Мейера)**

Анализ данных, полученных в нашем исследовании, не выявил значимой зависимости структурно-функционального состояния легких донора со степенью тяжести ПДТ и тяжестью общего состояния реципиента. Возможными причинами такого результата считаем, во-первых, тщательный отбор доноров и высокое качество легочных трансплантатов в рамках многофакторной комплексной оценки возможного посмертного донора. Во-вторых, необходимо отметить большое количество неблагоприятных реципиент-ассоциированных факторов, оказывающих влияние на течение послеоперационного периода и функцию трансплантатов, имевших место в анализируемой группе. У большинства реципиентов ($n = 7$; 63,6%) во время операции были использованы системы вспомога-

тельного кровообращения (ИК или ЭКМО), которые значительно увеличивают вероятность неблагоприятного течения раннего послеоперационного периода и могут способствовать более тяжелому течению реакции ишемически-реперфузионного повреждения трансплантатов (Barr M.L. et al., 2005).

Таким образом, на основании непосредственных результатов первой серии ТЛ в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского была оценена эффективность разработанных протоколов и алгоритмов. В целом функциональное состояние легочных трансплантатов в раннем послеоперационном периоде может быть оценено как удовлетворительное. Нами не было обнаружено статистически значимой взаимосвязи факторов оценки пригодности донорских легких с особенностями течения раннего посттрансплантационного периода. Уровень выживаемости реципиентов в анализируемой группе сопоставим с выживаемостью в аналогичные сроки по данным Международного общества трансплантации сердца и легких, что свидетельствует об успехе начатой программы по трансплантации легких в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

ВЫВОДЫ

1. Для определения пригодности донора с СГМ для трансплантации легких главная роль принадлежит ФБС, так как самой частой причиной отказа для донорства легких (29,4%) стал факт выявления аспирации желудочного содержимого в трахеобронхиальное дерево, а также выявлено превалирующее значение получаемых в ходе ФБС данных о наличии гнойной мокроты и степени эндобронхита в принятии окончательного решения об использовании донорских легких.
2. Такие показатели, как ИО, степень выраженности инфильтративных изменений по данным рентгенографии груди, наличие и цитологическая характеристика гнойной мокроты, степень эндобронхита, продолжительность ИВЛ, возраст донора, анамнестические факторы риска (курение, травма груди) целесообразно анализировать в рамках предложенной балльной шкалы, что повышает объективность результирующей оценки. Сумма баллов, равная 9, является критической для определения пригодности донорских легких для трансплантации.
3. Разработанный многофакторный алгоритм оценки структурно-функционального состояния легких у доноров с СГМ обеспечивает эффективное использование популяции возможных доноров легких с коэффициентом 15,9%. Применение методики этапной оценки позволяет оптимальным образом организовать работу донорской бри-

гады с применением всего арсенала диагностических мероприятий у тех доноров, у которых вероятность эффективного использования легких для трансплантации максимальна.

4. Предложенные протоколы защиты структурно-функционального состояния донорских легких, разработанные на основе систематического обзора рекомендаций ведущих зарубежных трансплантационных сообществ и публикаций из крупных трансплантационных центров, позволяют осуществлять эффективное донорское обеспечение клинической ТЛ с потерей донорских органов не более 11,6%.
5. Непосредственные результаты выполненных в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ТЛ свидетельствуют о высоком качестве отобранных легочных трансплантатов, которые не оказывали влияния на тяжесть течения раннего послеоперационного периода и не были непосредственной причиной послеоперационных осложнений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В оценке посмертного донора с СГМ необходимо выделять 4 этапа. Первый этап (начальная оценка) служит для неспецифической селекции доноров и может быть осуществлен сотрудниками донорской базы или учреждения, осуществляющего координацию органного донорства. Для проведения остальных этапов оценки (предварительной – в организме донора, окончательной – в ходе операции мультиорганного изъятия, завершающей – после проведения холодовой перфузии) необходимо участие специализированной бригады, состоящей из торакального хирурга, врача эндоскопической диагностики, реаниматолога и врача цитологической диагностики.
2. В состав специализированной донорской бригады по оценке потенциального донора легких необходимо включение опытного врача эндоскопической диагностики, так как этот метод имеет превалирующее значение.
3. Все критерии оценки посмертного донора необходимо разделять на исключающие и оценивающие с целью четкого определения абсолютных и относительных признаков пригодности легких для трансплантации.
4. Оценивающие критерии необходимо оценивать, согласно предложенной балльной шкале. Сумма баллов, равная 9, является критическим значением пригодности донорских легких для трансплантации.
5. В протоколе медицинского сопровождения потенциального донора легких с СГМ должны быть учтены особенности патофизиологических механизмов повреждения легочной ткани. Помимо адекват-

ной коррекции гемодинамических, метаболических и электролитных нарушений необходимо обращать пристальное внимание на контроль водного баланса, режим ИВЛ, схему назначения превентивной антибактериальной терапии.

6. Уменьшение водной нагрузки в виде внутривенных инфузий, играющей важную роль в развитии нейрогенного отека легких у доноров с СГМ, может быть достигнуто за счет эффективной терапии несахарного диабета, например, путем назначения препаратов – синтетических аналогов вазопрессина.
7. ИВЛ необходимо проводить в режиме принудительной вентиляции с управлением по давлению со следующими параметрами: PEEP от 5 до 8 см вод. ст.; пиковое давление вдоха – не более 30 см вод. ст.; FiO_2 не более 40–50%; частота дыхания – 6–18 вдохов в минуту.
8. Целесообразно проводить рекрутирование альвеол путем повышения PEEP до 15 см вод. ст. и пикового давления вдоха до 30 см. вод. ст. – по 3 каждые 30 дыхательных циклов, а также ротационную терапию путем применения прональной позиции.
9. Необходимо применять антибактериальные препараты широкого спектра действия, эффективные в отношении возбудителей нозокомиальной бронхолегочной инфекции.
10. В ходе процедуры донорского изъятия легких необходимо использовать методы тупого разделения тканей, что позволяет ускорить процедуру без ущерба безопасности структурной целостности трансплантата. Пересечение пищевода при выделении двулегочного донорского комплекса не является обязательной процедурой.
11. Для фармако-холодовой перфузии и консервации легочного трансплантата необходимо применять низкокалиевые декстрансодержащие растворы, которые могут обеспечить безопасное сохранение органа в течение до 12 ч.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Хубутия М.Ш., Чучалин А.Г., Абакумов М.М., Авдеев С.Н., Тимербаев В.Х., Поплавский И.В., Годков М.А., Минина М.Г., Тарабрин Е.А., Карчевская Н.А.,* ***Головинский С.В.****, Левицкая Н.Н., Гуляев В.А., Мещерякова Н.Н., Самсонова М.В., Полищук В.Б., Ибрагимова Д.Ф., Цурова Д.Х., Селина И.Е., Попова И.Е.* Первая трансплантация легких в НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского // Трансплантология. – 2011. – № 2–3. – С. 5–9.
2. *Хубутия М.Ш., Пинчук Т.П., Галайко С.В., Левицкая Н.Н., Гасанов А.М., Тарабрин Е.А.,* ***Головинский С.В.****, Селина И.Е.* Эндоскопическая оценка состояния трахеобронхиального дерева на донорском этапе трансплантации легких // Эндоскопическая хирургия. – 2012. – № 5. – С. 19–21.

3. *Хубутия М.Ш., Тарабрин Е.А.,* ***Головинский С.В.****, Абакумов М.М., Виноградов В.Л., Минина М.Г., Цурова Д.Х., Левицкая Н.Н., Гасанов А.М., Галайко С.В., Самсонова М.В.* Многофакторная оценка посмертного донора с позиции трансплантации легких // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – № 1. – С. 12–20.
4. *Левицкая Н.Н., Гасанов А.М., Пинчук Т.П., Вычужанина Е.В., Тарабрин Е.А.,* ***Головинский С.В.*** Роль фибротрахеобронхоскопии на этапе обследования потенциального донора и во время трансплантации легких // Сборник тезисов: 16-й Московский международный конгресс по эндоскопической хирургии. – М., 2012. – С. 126–128.
5. *Левицкая Н.Н., Гасанов А.М., Пинчук Т.П., Вычужанина Е.В., Тарабарин Е.А.,* ***Головинский С.В.*** Эндоскопическое пособие на донорском этапе и при трансплантации легких [сб. тез. Рос. общества эндоскоп. хирургов] // Альманах института хирургии им. А.В. Вишневского. – 2012. – № 1. – С. 157–158.
6. *Чучалин А.Г., Абакумов М.М, Авдеев С.Н., Тимербаев В.Х., Поплавский И.В., Годков М.А., Минина М.Г., Тарабрин Е.А., Карчевская Н.А.,* ***Головинский С.В.****, Левицкая Н.Н., Гуляев В.А., Мещерякова Н.Н., Самсонова М.В., Полищук В.Б., Ибрагимова Д.Ф., Цурова Д.Х., Селина И.Е., Попова И.Е., Хубутия М.Ш.* Успешная двусторонняя трансплантация легких у больной с лимфангиолейомиоматозом // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2012. – № 2. – С. 66–68.
7. *Хубутия М.Ш.,* ***Головинский С.В.****, Виноградов В.Л., Минина М.Г., Тарабрин Е.А., Цурова Д.Х.* Возможности организации этапной оценки пригодности легких от доноров со смертью головного мозга // Актуальные направления современной кардиоторакальной хирургии (Материалы III Международного конгресса под редакцией профессора П.К. Яблонского). – СПб., 2013. – С. 46.
8. ***Головинский С.В.****, Тарабрин Е.А., Гасанов А.М., Галайко С.В., Виноградов В.Л.* Защита и восстановление функции легочного трансплантата на донорском этапе трансплантации легких // Актуальные направления современной кардиоторакальной хирургии (Материалы III Международного конгресса под редакцией профессора П.К. Яблонского). – СПб., 2013. – С. 48–49.
9. *Хубутия М.Ш., Чучалин А.Г., Абакумов М.М., Авдеев С.Н., Тарабрин Е.А.,* ***Головинский С.В.****, Карчевская Н.А., Первакова Э.И., Романов А.А., Гасанов А.М., Самсонова М.В., Мещерякова Н.Н., Цурова Д.Х., Ибрагимова Д.Ф., Каллагов Т.Э., Годков М.А., Селина И.Е.* Опыт первых 10 трансплантаций легких в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского // Актуальные направления современной кардиоторакальной хирургии (Материалы III Международного конгресса под редакцией профессора П.К. Яблонского). – СПб, 2013. – С. 106–107.
10. *Хубутия М.Ш., Чучалин А.Г., Абакумов М.М., Авдеев С.Н., Тарабрин Е.А.,* ***Головинский С.В.****, Карчевская Н.А., Первакова Э.И., Романов А.А., Гасанов А.М., Самсонова М.В., Мещерякова Н.Н., Цурова Д.Х., Ибрагимова Д.Ф., Каллагов Т.Э., Годков М.А., Селина И.Е.* Опыт трансплантации легких в НИИ

СП им. Н.В. Склифосовского // Здоровье столицы-2013: тез. докл. XII Моск. ассамблеи, 21–22 нояб. 2013. – М., 2013. – С. 135–136.

11. ***Golovinskiy S.**, Hubutia A., Chuchalin A., Abakumov M., Avdeev S., Tarabrin E., Karchevskaya N., Romanov A., Kurilova O., Pervakova E., Gasanov A., Tsurova D.* The first successful series of lung transplantations in Russia: A single centre experience // Eur Respir J. – 2013. – Vol. 42, Suppl. 57. – P. 561s.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление
БАЛ – бронхо-альвеолярный лаваж
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
Г «–» или Г «+» – грамотрицательный или грамположительный микроорганизм
ИВЛ – искусственная вентиляция легких
ИК – искусственное кровообращение
ИЛГ – идиопатическая легочная артериальная гипертензия
ИЛФ – идиопатический легочный фиброз
ИО – индекс оксигенации, который рассчитывался по формуле:

$$\frac{P_aO_2 \times 100\%}{FiO_2},$$

где P_aO_2 – парциальное напряжение кислорода в артериальной крови (в мм рт. ст.), FiO_2 – фракция кислорода в дыхательной смеси (в процентах).
КОС – кислотно-основное состояние крови
ЛАМ – лимфангиолейомиоматоз легких
ММФ – мофетил микофенолат, препарат из группы антиметаболитов
МКЦОД – Московский координационный центр органного донорства
МП – метилпреднизолон, препарат из группы глюкокортикостероидов
ПДТ – первичная дисфункция трансплантата легкого
РФ – Российская Федерация
СГМ – смерть головного мозга
США – Соединенные Штаты Америки
ТЛ – трансплантация легких
ФБС – фибробронхоскопия
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
ЦВД – центральное венозное давление

ЧСС	–	частота сердечных сокращений
ЭКГ	–	электрокардиограмма
ЭКМО	–	экстракорпоральная мембранная оксигенация крови
CF	–	муковисцидоз
FiO_2	–	содержание кислорода в составе газовой смеси аппарата ИВЛ
$PaCO_2$	–	парциальное напряжение двуокиси углерода в артериальной крови
P_aO_2	–	парциальное напряжение кислорода в артериальной крови
PEEP	–	положительное давление в конце выдоха
Rö	–	рентгенограмма
α1Ан	–	альфа-1-антитрипсиновая недостаточность

Жирнова Татьяна Юрьевна

РОЛЬ ФИЗИЧЕСКОЙ РЕАЛИБИТАЦИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИПИЕНТОВ С ДОНОРСКОЙ ПОЧКОЙ

14.03.11 – восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России

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

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор **Ачкасов Евгений Евгеньевич**
доктор медицинских наук **Цирульникова Ольга Мартеновна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Во всем мире и в России увеличивается количество операций по трансплантации органов (Андрусев А.М., 2009; Бикбов Б.Т., 2014; Готье С.В., 2012). Увеличивается количество людей с терминальной хронической почечной недостаточностью (Александрова Г.А., 2011; Бикбов Б.Т., 2014; Ведерникова С.Л., 2010; Новикова Н.А., 2010). В последние десятилетия

заместительная почечная терапия (гемодиализ, перитонеальный диализ) и трансплантация почки продлевают жизни многих пациентов с ТХПН (Андрусев А.М., 2009). Трансплантация почки является наиболее эффективным методом лечения терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ТХПН). Пациенты с ТХПН вынуждены находиться на диализе пожизненно или до пересадки почки (Бикбов Б.Т., Томилина Н.А., 2008). Качество жизни (КЖ) таких больных зависит как от самой болезни, так и от типа заместительной терапии (Васильева И.А., 2003). Анализ КЖ определяет необходимость трансплантации у пациента, предоставляет медицинским работникам информацию о психосоциальном и физическом воздействии после трансплантации почки (Evans R. et al., 1985; Fallon M. et al., 1997; Fayazi S. et al., 2008). Трансплантация почки является главным методом лечения для терминальной стадии почечной недостаточности при условии выживания трансплантата (Тареев Е.М., 1995; Шумаков В.И., 1994), а также обеспечивает лучшее КЖ, оценка которого стала важным параметром. Для определения качества жизни в исследованиях наиболее широко используют опросник SF36 (Новик А.А., 1999; Ware J.E. et al., 1992).

Трансплантация почки является эффективным методом лечения, однако хирургическое вмешательство может изменить КЖ как в положительную, так и в отрицательную сторону (Ефремов Е.А., 2011; Траилин А.В., 2008; Danovitch G.M., 2010; Wesoiowski T., 2003; 43, 90). После трансплантации донорского органа возможны побочные эффекты от приема иммуносупрессивных препаратов [Ермакова И.П., 2009; Клим Ф., 2007), а риск отторжения трансплантата может означать возврат к диализу (Зарецкая Ю.М., 2011). При этом известно, что люди с трансплантированными органами могут вести активный образ жизни, заниматься физической культурой и спортом (Wall D., 2011).

Физиологические изменения, специфичные для пациентов с хроническими заболеваниями почек, а также для реципиентов с донорской почкой, обуславливают необходимость включения в программу медицинской реабилитации физических упражнений (Вишневский К.А., 2009; Онучин Н.А., 2009; Robinson-Cohen C., 2014; Sakkas G.K., 2003). Однако до настоящего времени нет единой точки зрения на выбор программ физической реабилитации таких пациентов, не разработаны критерии для формирования индивидуальных реабилитационных программ с учетом персонифицированного подхода.

Таким образом, изучение качества жизни, функционального состояния и адаптационных резервов организма в зависимости от степени физической активности на этапах медицинской реабилитации является актуальной и пока не вполне решенной проблемой, решение которой позволит оптимизировать формирование комплексных реабилитационных программ.

Целью работы становится разработка и патогенетическое обоснование программ физической реабилитации у реципиентов с донорской почкой.

Задачи исследования

1. Оценить влияние терминальной хронической почечной недостаточности на качество жизни, функциональное состояние и адаптационные резервы организма пациентов, находящихся на гемодиализе и перитонеальном диализе.
2. Разработать программу физической реабилитации реципиентов с донорской почкой.
3. Определить функциональное состояние и адаптационные резервы организма реципиентов донорской почки на этапах медицинской реабилитации.
4. Изучить качество жизни реципиентов донорской почки на этапах медицинской реабилитации в зависимости от программы физической реабилитации.
5. Оценить эффективность стандартных и индивидуализированных пролонгированных программ физической реабилитации реципиентов донорской почки.

Научная новизна

На основании результатов комплексного функционального тестирования реципиентов донорской почки впервые разработаны индивидуализированные программы физической реабилитации.

Впервые разработан алгоритм физической реабилитации пациентов после операции трансплантации почки, основанный на патогенетических механизмах, с учетом изменений, происходящих в организме пациента в результате хронической почечной недостаточности до операции и особенностях как самой операции, так и побочных эффектах имуносупрессивной терапии после трансплантации.

Впервые изучено качество жизни, функциональное состояние и адаптационные резервы организма реципиентов с донорской почкой до операции и на этапах медицинской реабилитации в зависимости от программы физической реабилитации и степени физической активности. Оценена эффективность программ физической реабилитации.

Практическая значимость

Разработан и внедрен в практику персонифицированный подход к формированию индивидуальных реабилитационных программ, позволяющий улучшить функциональное состояние, адаптационные резервы организма и качество жизни реципиентов с донорской почкой на 3 этапах медицинской реабилитации.

Предложены индивидуальные программы физической реабилитации на основе оценки показателя общих резервов здоровья с помощью аппаратно-программного комплекса «Истоки здоровья».

Положения, выносимые на защиту

1. Для реципиентов с донорской почкой необходим персонифицированный подход к выбору программ физической реабилитации.
2. Для индивидуализации физической нагрузки на этапах медицинской реабилитации пациентов после трансплантации почки необходимо проведение комплексного тестирования, включающего оценку функционального состояния, адаптационных резервов организма и качества жизни.
3. Для повышения эффективности индивидуализированных реабилитационных программ необходима их пролонгация как минимум до 12 мес. после операции.

Внедрение результатов исследования

Методические и тактические подходы, созданные на основе диссертационной работы, внедрены в клиническую практику ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России.

Результаты диссертационной работы используются в лечебной и преподавательской работе на кафедре лечебной физкультуры и спортивной медицины и кафедре трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России.

Апробация работы

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены: на XII Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы и перспективы восстановительной медицины и санаторно-курортного лечения в здравницах России» (Сочи, 2011); научно-практической конференции с международным участием «Успенские чтения» (Тверь, 2012); Международной научно-практической конференции «Физкультура и здоровье: молодежная наука и инновации» (Тула, 2013); III Всероссийском конгрессе с международным участием «Медицина для спорта – 2013» (Москва, 2013); IV Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции «Спорт и медицина. Сочи – 2013» (Сочи, 2013); научной конференции «Реабилитация и профилактика–2013» (Москва, 2013); Международной научно-практической конференции «Физическая культура и здоровье: молодежная наука и инновации» (Тула, 2014); IV Всероссийском конгрессе с международным участием «Медицина для спорта – 2014» (Казань, 2014); Международной научно-практической конференции «Теоретические и практические подходы к сохранению здоровья человека» (Москва, 2014).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, 5 из которых – в центральной печати.

Объем и структура работы

Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация изложена на 140 страницах, иллюстрирована 20 таблицами, 9 рисунками и 28 диаграммами. Список литературы включает 218 источников (97 работ отечественных авторов и 121 – иностранных).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы результаты обследования и лечения 57 пациентов (средний возраст 35 ± 9,65 года), перенесших трансплантацию почки, имеющих нормальную функцию трансплантата, давших согласие участвовать в исследовании, без послеоперационных осложнений (острое отторжение трансплантата, раневая инфекция, лимфоцеле, кровотечение, тромбозы, стеноз почечной артерии, мочевой затек, обструкция мочеточника). Дополнительными критериями включения в I группу были возможность регулярного очного динамического наблюдения и посещения занятий ЛФК в ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова, проживание на территории Москвы и Московской области. Из них на гемодиализе находилось 43 человека и на перитонеальном диализе – 14 человек, сроки диализа составили от 2 мес. до 5,5 года, в среднем 2 г ± 1,47 мес. до операции. Причиной трансплантации почки во всех случаях являлась терминальная стадия почечной недостаточности (ТХПН) в исходе заболеваний: хронический гломерулонефрит – 65,5%, хронический пиелонефрит – 19,6% и другие причины – 14,9%. Заболевания, которые привели к ТХПН, в обеих группах были сопоставимы. Характер трансплантата: от трупного донора – 34 операции, от родственного донора – 23 операции.

Для анализа результатов реабилитационного лечения и качества жизни пациенты были распределены на 2 группы в зависимости от комплексов физических упражнений и характера двигательной активности. I группу составили 30 больных (13 женщин, 17 мужчин) со средним возрастом 35,6 ± 9,9 года (минимальный – 21, максимальный – 55), которые проходили все три периода медицинской реабилитации с учетом персонифицированного подхода к выбору пролонгированной физической реабилитации. II группа – 27 пациентов (12 женщин, 15 мужчин) со средним возрастом 34,4 ± 9,4 года (минимальный – 20, максимальный – 57), которым реализовывали только программу стационарных этапов медицинской

реабилитации. В сравнительную III группу объединили 30 относительно здоровых человек (15 женщин, 15 мужчин) со средним возрастом 33,7 ± 8,7 года, ведущих обычный образ жизни, не занимающихся регулярно физической культурой и спортом. Группы были сопоставимы по возрасту, длительности нахождения на заместительной почечной терапии до операции и функции трансплантата. До операции, через 1, 3, 6 и 12 мес. после трансплантации пациентам в обеих группах проводили тестирование: функционального состояния, адаптационных резервов организма и качества жизни. Также для сравнения была протестирована III группа соответствующих по возрасту здоровых людей, ведущих обычный образ жизни, не занимающихся спортом и фитнесом.

Методика оценки функционального состояния и адаптационных резервов организма

Использовали аппаратно-программный комплекс (АПК) «Истоки здоровья», который представляет собой комплексную программу тестирования для оценки функциональных и адаптационных резервов организма (Баландин Ю.П., 2004). Входящие в состав АПК диагностические тесты общепризнаны и широко применяются в функциональной диагностике: проба PWC-170 позволяет оценить физическую работоспособность, определить фактическое и должное максимальное потребление кислорода (МПК), характеризующее аэробную производительность и функциональные резервы кислородотранспортной системы организма; тест вариационной пульсометрии – высокоэффективный метод исследования системы нейрогуморальной регуляции, оценки на этой основе текущего функционального состояния и адаптационных резервов организма; тест зрительно-моторной реакции, позволяющий оценить функциональное состояние центральной нервной системы (ЦНС) по показателям возбудимости, реактивности и устойчивости реагирования; тест физических возможностей по Г.Л. Апанасенко является известным экспресс-методом количественной оценки физического здоровья; тест общей реактивности (по Гаркави Л.Х. с соавт.), основанный на тесной связи психофизиологического состояния человека с общей неспецифической адаптационной реакцией, которая позволяет определить тип и уровень адаптивных реакций организма; блок тестов для оценки психоэмоционального состояния человека используется для характеристики уровня тревожности, эмоциональной стабильности и стрессоустойчивости. Результатом тестирования является комплексная оценка резервов здоровья – показатель «общие резервы здоровья», который вычисляется как производная величина от значений соматического, психологического и гомеостатического компонентов, исходя из принципа выявления и учета «слабых» звеньев в функциональном состоянии организма (Баландин Ю.П., 2005; Соколов А.В.,

2001). Составляющие шкалы оценки интегрального показателя здоровья: общие резервы (ОР), физические резервы (ФР), психические резервы (ПР), адаптационные резервы (АР).

Методика оценки качества жизни

Оценивали качество жизни (физический и психический компонент) на основании опросника «SF-36 HealthStatusSurvey» (русская версия). Составляющие шкалы опросника (8 шкал, оцениваемых от 0–100 баллов): физическое функционирование (ФФ), ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (РФФ), интенсивность боли (ИБ), общее состояние здоровья (ОЗ), психическое здоровье (ПЗ), ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (РЭФ), социальное функционирование (СФ), жизненная активность (ЖА).

Методика оценки физической активности

Оценивали физическую активность с помощью шагомеров OMRON WalkingStyleOne HJ-152.

Методы физической реабилитации

Разработан алгоритм физической реабилитации пациентов после операции трансплантации почки (рис. 1), основанный на патогенетических механизмах, с учетом изменений, происходящих в организме пациента с хронической почечной недостаточностью до операции и особенностей как самой операции, так и побочных эффектах иммуносупрессивной терапии после трансплантации. Алгоритм включал 2 периода, для которых были разработаны примерные программы физической реабилитации, проводимые пациентам в I группе. I период – ранний послеоперационный. В этом периоде реабилитации мы выделили два подпериода: 1–3-и сут после операции и первые 3 мес. после операции. Целью ЛФК в 1-м подпериоде являлась профилактика ранних послеоперационных осложнений. Задачи ЛФК: профилактика пневмонии, ателектаза легкого, атонии кишечника, тромбоэмболических осложнений; улучшение оттока жидкости через дренаж, нормализация деятельности ССС, адаптация больного к возрастающей физической нагрузке. Противопоказания к назначению ЛФК: общее тяжелое состояние больного, обусловленное послеоперационным шоком, нарушением или остановкой сердечной деятельности, воздушной эмболией, внутренним кровотечением, значительным кровохарканьем, наличием бронхиальных свищей; острая сердечная недостаточность; значительное смещение средостения; спонтанный пневмоторакс; быстро нарастающая подкожная эмфизема; высокая температура тела (38–39 °С); разрыв и острое отторжение трансплантата.

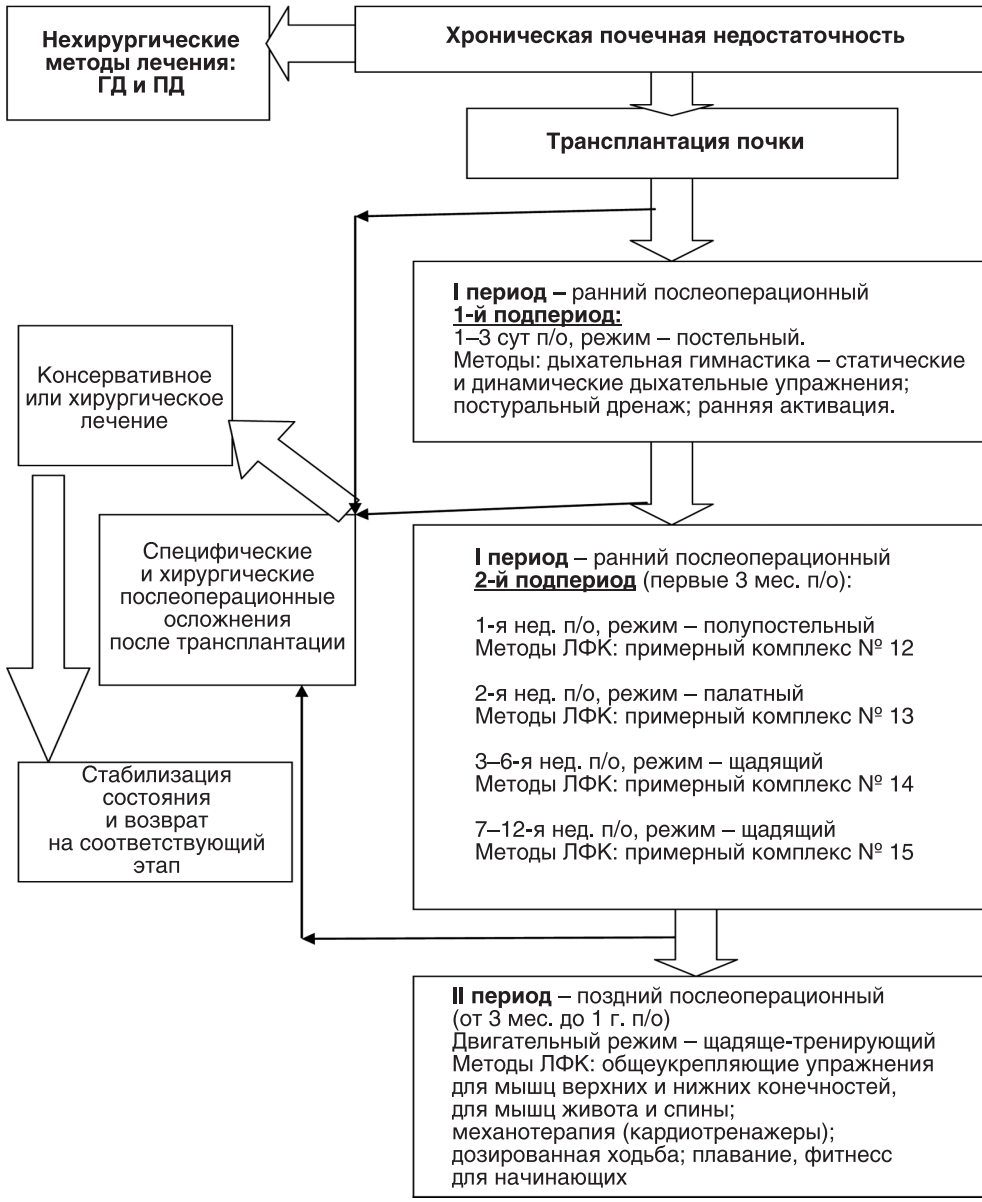


Рис. 1. **Алгоритм физической реабилитации пациентов после операции трансплантации почки**

Двигательный режим – постельный в палате интенсивной терапии, включал в себя дыхательную гимнастику, постуральный дренаж, раннюю активацию больного. Целями ЛФК во 2-м подпериоде являлись: профилактика ранних и поздних послеоперационных осложнений; улучшение функционального состояния. Задачи ЛФК: улучшение функционального

состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем, профилактика спаечного процесса, формирование эластичного рубца, восстановление правильной осанки, укрепление мышц плечевого пояса, туловища и конечностей, улучшение психоэмоционального статуса. Противопоказания: ухудшение показателей сердечно-сосудистой и мочевыделительной системы, обострение сопутствующих заболеваний, острый криз отторжения трансплантата.

Двигательные режимы: в 1-ю нед. после операции назначают полупостельный режим, который включает в себя примерные упражнения из комплекса № 12, затем со 2-й нед. в зависимости от функционального состояния ССС, удаления мочевого катетера и общего самочувствия пациента разрешается палатный режим, в котором добавляют упражнения сидя на стуле с дозированной ходьбой (пример: комплекс № 13). Далее после снятия швов (как правило, на 14–16-е сут после операции) и в отсутствие ухудшения функционального состояния сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем в соответствии с самочувствием пациента назначается примерный комплекс ЛФК № 14 до 5–6-й нед. после операции. Затем, при отсутствии хирургических противопоказаний и стабильной функции сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем, с 7–12-й нед. пациента переводят в щадящий двигательный режим и назначают примерный комплекс ЛФК № 15.

II период – поздний послеоперационный период. Сроки – от 3 мес. до года. Цели ЛФК в этом периоде: снижение рисков развития ССЗ; снижение побочных эффектов иммуносупрессивной терапии. Задачи ЛФК: профилактика развития артериальной гипертензии, гиперлипидемии, гипергликемии, ожирения, профилактика остеопороза; укрепление мышц брюшного пресса, профилактика нарушений осанки; адаптация всех систем организма к возрастающей физической нагрузке; повышение психического здоровья и качества жизни. Противопоказания: ухудшение показателей сердечно-сосудистой и мочевыделительной системы, обострение сопутствующих заболеваний, острый криз отторжения трансплантата. Двигательный режим – щадяще-тренирующий. На этом этапе применяли упражнения, способствующие укреплению мышц спины и живота, суставную гимнастику, общеукрепляющие упражнения для мышц рук и ног, дозированную ходьбу 30 мин ежедневно или 1 ч через день в среднем темпе. Во всех периодах физическую нагрузку дозировали с помощью шкалы индивидуального восприятия нагрузки Борга.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных произведена с помощью программы SPSS Statistics 17.0 и Microsoft Excel. Поскольку на данном объеме выборки не получено нормальное распределение признаков, то были ис-

пользованы методы непараметрической статистики: для проверки гипотез о значимости различий применен критерий Манна–Уитни при достоверном уровне вероятности различий $p < 0,05$, для проверки связи между показателями выборки применен коэффициент ранговой корреляции Спирмена r.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования функционального состояния и адаптационных резервов организма

Произведен сравнительный анализ динамики общих резервов здоровья (ОР) и составляющих их компонентов (ФР, ПР, АР) у пациентов I и II группы до операции, через 1, 3, 6, 12 мес. после трансплантации почки (рис. 2–5).

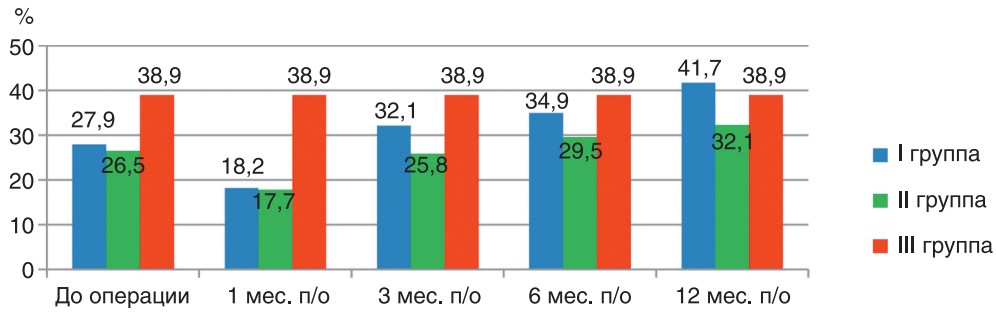


Рис. 2. **Динамика показателей физических резервов здоровья I и II группы до операции, через 1, 3, 6 и 12 мес. после операции и III группы здоровых людей**

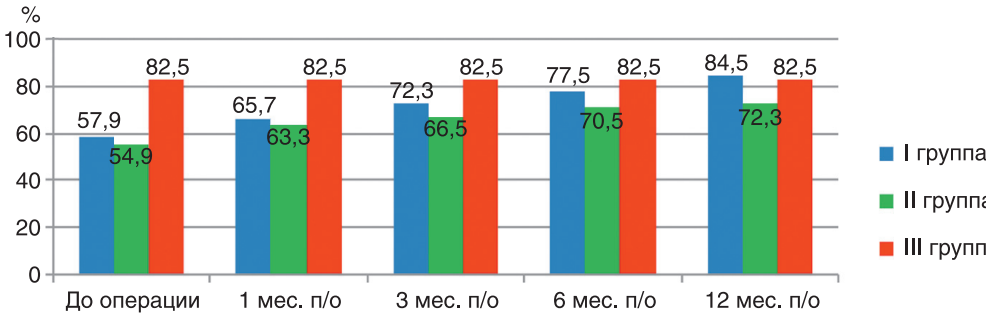


Рис. 3. **Динамика показателей психических резервов здоровья I и II группы до операции, через 1, 3, 6 и 12 мес. после операции и III группы здоровых людей**

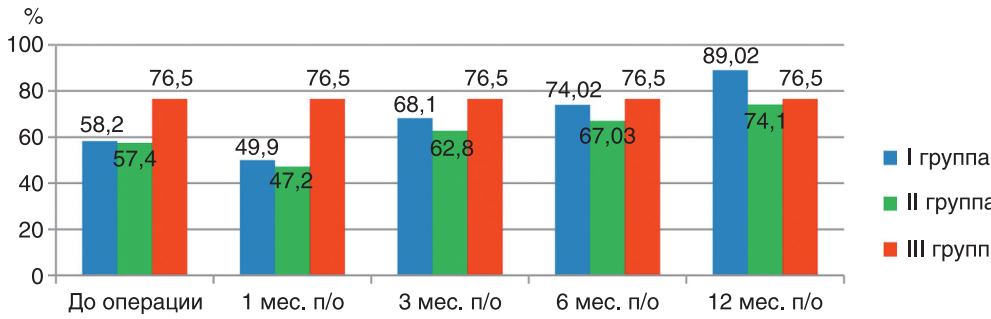


Рис. 4. **Динамика показателей адаптационных резервов здоровья I и II группы до операции, через 1, 3, 6 и 12 мес. после операции и III группы здоровых людей**

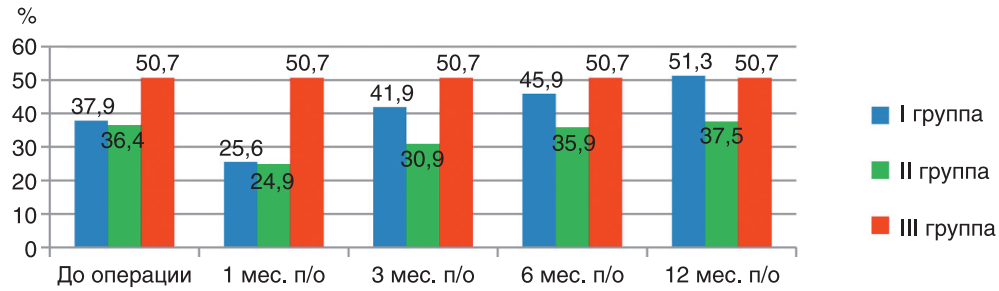


Рис. 5. **Динамика показателей общих резервов здоровья I и II группы до операции, через 1, 3, 6 и 12 мес. после операции и III группы здоровых людей**

Между пациентами I и II группы до операции и через 1 мес. после операции значимых различий показателей физических, психических, адаптационных и общих резервов здоровья не наблюдалось. Однако по сравнению с III группой все показатели I и II группы оказались значительно меньше (табл. 1).

Через 3 мес. после операции отметили значительное увеличение показателя ФР в I группе по сравнению со II группой на 6,3% ($p < 0,05$), а через 6 месяцев показатель ФР в I группе оставался достоверно выше на 5,4%, чем во II группе. Через 12 мес. после операции показатель ФР в I группе увеличился ($41,7 \pm 6,0$) ($p < 0,05$) на 9,6% по сравнению со II группой, что, очевидно, связано с продлением этапов физической реабилитации до 12 мес. после операции в этой группе.

Через 3 мес. после операции отметили значимое увеличение показателя ПР в I группе по сравнению со II группой на 5,8% ($p < 0,05$), а через 6 мес. показатель ПР в I группе оставался достоверно выше на 6,6%, чем

Таблица 1

Показатели физических резервов I и II группы до операции и через 1 мес. после операции (%)

	I группа		II группа		III группа
	До операции	Через 1 мес. п/о	До операции	Через 1 мес. п/о	
ФР	27,9 ± 3,4$^{\#}$	18,2 ± 3,5$^{*\#}$	26,5 ± 3,7$^{\#}$	17,7 ± 3,02$^{*\#}$	38,9 ± 8,3
ПР	57,9 ± 3,9$^{\#}$	65,7 ± 4,9$^{*\#}$	54,9 ± 5,6$^{\#}$	63,3 ± 3,3$^{*\#}$	82,5 ± 9,8
АР	58,2 ± 3,7$^{\#}$	49,9 ± 4,3$^{*\#}$	57,4 ± 5,4$^{\#}$	47,2 ± 7,8$^{*\#}$	76,5 ± 9,9
ОР	37,9 ± 7,6$^{\#}$	25,6 ± 4,01$^{*\#}$	36,4 ± 4,9$^{\#}$	24,9 ± 3,6$^{*\#}$	50,7 ± 10,4

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с исходными показателями, $^{\#}$ – $p < 0,05$ по сравнению с аналогичными показателями III группы.

во II группе. Через 12 мес. после операции показатель ПР в I группе увеличился на 12,2% ($p < 0,05$) по сравнению со II группой, что, очевидно, связано с продлением физической реабилитации до 12 мес. в этой группе.

Через 3 мес. после операции отметили увеличение показателя АР в I группе по сравнению со II группой на 5,3% ($p > 0,05$), а через 6 мес. показатель АР в I группе значительно увеличился – на 7,0% по сравнению со II группой. Через 12 мес. после операции показатель АР в I группе увеличился на 14,92% ($p < 0,05$) по сравнению со II группой, что, очевидно, связано с продлением физической реабилитации до 12 мес. после операции в этой группе. В I группе показатель АР оказался выше средних значений III группы здоровых людей на 12,52% ($p < 0,05$). Такое достижение и даже увеличение показателей ПР пациентов по сравнению с практически здоровыми людьми убедительно доказывает эффективность длительной (до 12 мес.) индивидуализированной программы физической реабилитации.

Через 3 мес. после операции отметили существенное увеличение показателя ОР в I группе по сравнению со II группой на 11% ($p < 0,05$), а через 6 мес. показатель ОР в I группе оставался выше (на 10%), чем во II группе. Через 12 мес. после операции показатель ОР в I группе увеличился на 13,8% ($p < 0,05$) по сравнению со II группой и статистически не отличался от показателя ОР группы здоровых людей.

В I группе была зафиксирована динамика ФР и ПР выше средних значений III группы, однако статистически не достоверная, это достижение и даже увеличение показателей ФР пациентов по сравнению с практически здоровыми людьми убедительно доказывает эффективность длительной (до 12 мес.) индивидуализированной программы физической реабилитации.

Таким образом, представленные данные этапных тестирований пациентов разных групп убедительно свидетельствуют об эффективности разработанной программы физической реабилитации на основании до-

стоверной положительной динамики физических, адаптационных, психических и общих резервов здоровья у пациентов I группы.

Результаты исследования качества жизни

Произведен сравнительный анализ динамики физического (ФФ, РФФ, ИБ, ОЗ) и психического (ЖА, СФ, РЭФ, ПЗ) компонентов здоровья у пациентов I и II группы до операции, через 1, 3, 6, 12 мес. после трансплантации почки.

При анализе показателей качества жизни пациентов I и II групп до операции и через 1 мес. после операции значимых отличий в КЖ по всем шкалам опросника не выявили ($p > 0,05$), однако в I и II группах по сравнению с III группой отмечено достоверное снижение физического компонента на 43,7% и психического компонента на 35,9% (табл. 2), что говорит о том, что общее состояние пациентов, находящихся на гемодиализе и перитонеальном диализе, значительно ограничивает их в повседневной активности и выполнении физических нагрузок.

Таблица 2

Показатели шкал физического и психического компонента качества жизни I и II группы до операции и через 1 мес. после операции (баллы)

Шкала	I группа		II группа		III группа
	До операции	Через 1 мес. п/о	До операции	Через 1 мес. п/о	
ФФ	64,5 ± 5,5$^{\#}$	58,8 ± 6,9$^{*\#}$	63,3 ± 3,4$^{\#}$	57,2 ± 7,2$^{*\#}$	90,7 ± 8,3
РФФ	31,8 ± 5,5$^{\#}$	19,8 ± 8,9$^{*\#}$	27,8 ± 6,7$^{\#}$	16,5 ± 8,3$^{*\#}$	79,3 ± 6,8
ИБ	51,4 ± 8,5$^{\#}$	29,9 ± 4,8$^{*\#}$	52,7 ± 7,4$^{\#}$	39,8 ± 5,4$^{*\#}$	77,7 ± 4,4
ОЗ	52,5 ± 7,6$^{\#}$	56,1 ± 5,7$^{\#}$	53,9 ± 6,9$^{\#}$	55,8 ± 4,6$^{\#}$	77,6 ± 6,4
ЖА	58,5 ± 4,7$^{\#}$	60,1 ± 7,1$^{\#}$	56,9 ± 3,8$^{\#}$	57,8 ± 8,6$^{\#}$	74,8 ± 7,3
СФ	53,3 ± 7,3$^{\#}$	48,3 ± 7,4$^{\#}$	53,1 ± 5,9$^{\#}$	45,8 ± 4,7$^{\#}$	83,2 ± 7,1
РЭФ	42,2 ± 3,8$^{\#}$	46,7 ± 6,7$^{\#}$	51,9 ± 5,1$^{\#}$	43,2 ± 8,1$^{\#}$	81,6 ± 4,7
ПЗ	57,2 ± 7,2$^{\#}$	65,2 ± 3,9$^{*\#}$	43,1 ± 8,4$^{\#}$	63,4 ± 4,9$^{*\#}$	80,0 ± 7,5

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с исходными показателями, $^{\#}$ – $p < 0,05$ по сравнению с аналогичными показателями III группы.

Через 3 мес. после операции в I группе по сравнению со II группой достоверно увеличились показатели шкал ($p < 0,05$): ФФ – на 4,3%, РФФ – на 10,1%, ИБ – на 8,2%, ОЗ – на 7,5%, ЖА – на 9,8%, СФ – на 7,8%, РЭФ – на 2,5%, ПЗ – на 4,17%. Особенно заметна растущая разница в шкалах ЖА и РФФ, что подтверждает пользу физических упражнений на данном этапе реабилитации.

Через 6 мес. после операции в I группе по сравнению со II группой увеличились: ФФ – на 4,1%, РФФ – на 16,1%, ИБ – на 19,3%, ОЗ – на 5,4%, ЖА – на 12,6%, СФ – на 10,0%, РЭФ – на 17,2%, ПЗ – на 5,9%. Следует отметить растущую разницу между группами в шкалах РФФ, ЖА, ИБ, СФ, РЭФ в пользу I группы, установленную статистически ($p < 0,05$), что подтверждает пользу физических нагрузок в рамках разработанной программы.

Через 12 мес. после операции в обеих группах по сравнению с дооперационными показателями отмечали улучшение по всем шкалам опросника. Однако в I группе показатели КЖ оказались выше, чем во II группе: ФФ – на 16,2%, РФФ – на 26,5%, ИБ – на 19,9%, ОЗ – на 10,2%, ЖА – на 17,1%, СФ – на 19,1%, РЭФ – на 17,1%, ПЗ – на 10,8% ($p < 0,05$), что обусловлено внедрением организованной программы физической реабилитации в этой группе. КЖ пациентов II группы во все сроки послеоперационного периода значительно уступает таковому здоровых людей контрольной группы, а качество жизни пациентов I группы в соответствующие сроки незначительно уступает контрольной группе и даже через год после операции в шкалах ИБ и ЖА превышает на 5 и 8% соответственно, что мы связываем с субъективным ощущением пациентов значительного повышения своих физических возможностей после операции.

При прохождении пациентами I группы всех этапов физической реабилитации отмечено значительное повышение физического компонента здоровья на 25,4% и психического компонента здоровья на 24,6% ($p < 0,05$).

Во II группе отмечали меньшее увеличение физического компонента здоровья (на 7,9%) и психического компонента здоровья (на 10,1%), что значительно меньше, чем в I группе и связано с прохождением стандартной программы физической реабилитации в этой группе.

Таким образом, разработанные индивидуальные программы физической реабилитации, учитывающие результаты комплексного обследования, являются важным и эффективным компонентом лечебно-реабилитационных мероприятий на различных этапах реабилитации после трансплантации почки.

ВЫВОДЫ

1. Разработанный алгоритм физической реабилитации пациентов после трансплантации почки, основанный на патогенетических механизмах хронической почечной недостаточности до операции и особенностях как самой операции, так и побочных эффектах иммуносупресивной терапии после трансплантации, значительно повышает функциональное состояние, адаптационные резервы и качество жизни пациентов с донорской почкой.

2. Для больных с терминальной почечной недостаточностью характерно снижение качества жизни, как его психологического (на 35,9%), так и физического компонентов (на 43,7%), а также выраженное нарушение функционального состояния и адаптационных резервов организма по сравнению с относительно здоровыми людьми.
3. Патогенетически обоснованным комплексом реабилитационных мероприятий у пациентов после трансплантации почки является разработанная оригинальная пролонгированная программа физической реабилитации с учетом оценки функционального состояния и адаптационных резервов организма.
4. Программа длительной физической реабилитации с учетом персонифицированного подхода у реципиентов с донорской почкой позволяет увеличить показатели общих, физических, психических и адаптационных резервов относительно дооперационного периода на 13–30%.
5. Индивидуальная программа физической реабилитации у реципиентов с донорской почкой в течение 12 мес. после трансплантации позволяет увеличить показатели общих резервов на 13,8%, физических резервов – на 10%, психических резервов – на 12,2% и адаптационных резервов организма – на 15% по сравнению со стандартными реабилитационными программами, реализуемыми только на стационарных этапах медицинской реабилитации.
6. Персонифицированный подход к выбору программы физической реабилитации и ее пролонгированное проведение у пациентов с трансплантированной почкой позволяет значительно улучшить как физическую, так и психологическую составляющую качества жизни – на 25,4 и 24,6% соответственно – по сравнению со стандартной программой физической реабилитации, проводимой только на стационарных этапах медицинской реабилитации.
7. Длительная физическая реабилитация, основанная на принципах индивидуализации, позволяет повысить эффективность реабилитационных программ в 1,5–2 раза, а через 12 мес. после трансплантации почки приводит качество жизни, функциональное состояние и адаптационные резервы организма к уровню аналогичных показателей здоровых людей, чего не позволяет достичь физическая реабилитация, реализуемая только на стационарных этапах медицинской реабилитации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем пациентам после трансплантации почки необходим персонифицированный подход к физической реабилитации.

2. Для оценки функционального состояния и адаптационных резервов организма реципиентов с донорской почкой необходимо использовать комплексное клинико-инструментальное обследование (клиническая картина, проба PWC-170 [модификация]; тест вариационной пульсометрии; тест зрительно-моторной реакции; тест физических возможностей по Г.Л. Апанасенко; тест общей реактивности по Л.Х. Гаркави; блок тестов для оценки психоэмоционального состояния человека).
3. Все пациенты нуждаются в оценке качества жизни для индивидуализации программы медицинской реабилитации.
4. Начало физической реабилитации реципиентов с донорской почкой необходимо проводить в ранние сроки, на 1–2-е сут после операции.
5. Физическую реабилитацию пациентам после трансплантации почки необходимо проводить длительно, не менее 1 года после операции, под контролем врача ЛФК с учетом оценки функционального состояния и адаптационных резервов организма.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. ***Жирнова Т.Ю.*** Спорт как средство реабилитации людей с трансплантированными донорскими органами и стимулирования развития органного донорства / Ачкасов Е.Е., Готье С.В., Жирнова Т.Ю. и др. // Лечебная физкультура и спортивная медицина. – 2011. – № 12 (96). – С. 10–17.
2. ***Жирнова Т.Ю.*** Спортивные трансплантационные игры – путь развития органного донорства / Ачкасов Е.Е., Жирнова Т.Ю., Малиновская Е.В. и др. // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы и перспективы восстановительной медицины и санаторно-курортного лечения в здравницах России». – Сочи, 27–28 октября 2011. – С. 40.
3. ***Жирнова Т.Ю.*** Физическая реабилитация реципиентов с донорской почкой / Ачкасов Е.Е., Жирнова Т.Ю., Цирульникова О.М. // Успенские чтения: Материалы научно-практической конференции с международным участием / Под ред. проф. Е.М. Мохова. – Тверь, 2012. – Вып. 7. – С. 119.
4. ***Жирнова Т.Ю.*** Оценка качества жизни и физической активности реципиентов-мужчин с донорской почкой в отдаленном послеоперационном периоде / Жирнова Т.Ю., Ачкасов Е.Е., Цирульникова О.М. // Спортивная медицина: наука и практика, 2013 (приложение). Материалы III Всероссийского конгресса с международным участием «Медицина для спорта – 2013». – М., 9–10 апреля 2013. – № 1 (10). – С. 110–111.
5. ***Жирнова Т.Ю.*** Качество жизни пациентов с трансплантированной почкой / Жирнова Т.Ю., Белякова А.М. // Физкультура и здоровье: молодежная наука и инновации: сборник научных трудов участников Международной науч-

но-практической конференции / Под общ. ред. Е.В. Белых. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2013 – С. 56–58.

6. ***Жирнова Т.Ю.*** Физическая реабилитация после родственной трансплантации почки / Ачкасов Е.Е., Жирнова Т.Ю., Лазарева И.А. и др. // Материалы IV Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции «Спорт и медицина. Сочи – 2013» 19–22 июня 2013 г. / Под общ. ред. М.П. Бердниковой, С.Е. Павлова. – Сочи, 2013. – С. 168–169.
7. ***Жирнова Т.Ю.,*** *Ачкасов Е.Е., Белякова А.М., Цирульникова О.М.* Качество жизни реципиентов с почечным трансплантатом // Сборник материалов научной конференции «Реабилитация и профилактика–2013». – М.: Издательство Первого МГМУ имени И.М. Сеченова. – С.115–117.
8. ***Жирнова Т.Ю.*** Физическая реабилитация в трансплантологии / Готье С.В., Ачкасов Е.Е., Жирнова Т.Ю. и др. // Нефрология и диализ. – 2013. – № 3. – С. 200–205.
9. ***Жирнова Т.Ю.*** Влияние физической реабилитации на качество жизни после трансплантации почки / Жирнова Т.Ю., Ачкасов Е.Е., Цирульникова О.М. и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – № 3–4. – С. 65–70.
10. ***Жирнова Т.Ю.*** Роль физической реабилитации в лечении реципиентов с донорской почкой / Жирнова Т.Ю., Ачкасов Е.Е., Цирульникова О.М. и др. // Материалы IV Всероссийского конгресса с международным участием «Медицина для спорта – 2014» – Спортивная медицина: наука и практика – Приложение к № 1. – 2014. – С. 85–86
11. ***Жирнова Т.Ю.*** Оптимизация программ реабилитации после трансплантации почки / Жирнова Т.Ю., Цирульникова О.М., Ачкасов Е.Е. и др. // Сборник научных трудов участников Международной научно-практической конференции «Физическая культура и здоровье: молодежная наука и инновации». – Тула, май 2014. – С. 90–92.
12. ***Жирнова Т.Ю.*** Физические упражнения в реабилитации больных после трансплантации почки // Сборник материалов Международной научно-практической конференции «Теоретические и практические подходы к сохранению здоровья человека» . – М., 2014. – С. 16–17.
13. ***Жирнова Т.Ю.*** Оценка функционального состояния и адаптационных резервов организма у реципиентов с донорской почкой / Жирнова Т.Ю., Ачкасов Е.Е., Цирульникова О.М. и др. // Клиническая нефрология. – 2014. – № 4. – С. 11–15.
14. ***Жирнова Т.Ю.*** Влияние персонифицированного пролонгированного подхода в физической реабилитации на функциональное состояние, адаптационные резервы организма и качество жизни пациентов после трансплантации почки / Жирнова Т.Ю., Ачкасов Е.Е., Цирульникова О.М. и др. // Спортивная медицина: наука и практика. – 2014. – № 3. – С. 55–61.

Ирышкин Олег Евгеньевич

ПАТОМОРФОЛОГИЯ БИЛИАРНОЙ АТРЕЗИИ И БИЛИАРНОЙ ГИПОПЛАЗИИ У ДЕТЕЙ – РЕЦИПИЕНТОВ ДОНОРСКОЙ ПЕЧЕНИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

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

Научные руководители:
доктор медицинских наук **Цирульникова Ольга Мартеновна**
доктор медицинских наук, профессор **Ильинский Игорь Михайлович**

Актуальность темы

Наиболее частым показанием к трансплантации печени у детей является билиарная атрезия – самое распространенное холестатическое заболевание печени у детей раннего возраста. Билиарная гипоплазия встречается более редко, но также составляет значительную часть гепатобилиарных заболеваний, при которых возникает необходимость трансплантации печени (Готье С.В. с соавт. 2008, 2010; Baumann U., Ure B., 2012).

В настоящее время хирургическое лечение билиарной атрезии проводится в один или два этапа: операция Kasai – паллиативная портоэнтеростомия, выполняемая в неонатальном периоде, и/или трансплантация печени (Pakarinen M.P., Rintala R.J., 2011; Vries W. et al., 2012; Murar E. et al., 2014). Билиарная гипоплазия не поддается паллиативному хирургическому лечению, и единственным методом лечения этого заболевания является трансплантация печени (Kaye A.J. et al., 2010; Mizuguchi Y., 2011; Moreira R.K. et al., 2012).

Необходимость дифференциальной диагностики билиарной атрезии и билиарной гипоплазии обусловлена различным подходом к лечению этих заболеваний и связана с определением показаний к трансплантации печени и с возможностью избежать риска необоснованной портоэнтеростомии. Билиарная атрезия характеризуется облитерацией как внепеченочных, так и внутрипеченочных желчных протоков и приводит в конечном итоге к вторичному билиарному циррозу. Билиарная гипоплазия в большинстве случаев характеризуется дуктопенией, т. е. обеднением желчными протоками портальных трактов (Мухина Ю.Г. с соавт., 2007; Mozhgan Z. et al., 2013). Проведение дифференциальной диагностики представляет значительные трудности, в связи с тем что в обоих случаях происходит поражение и внепеченочного билиарного дерева, и внутрипеченочных желчевыводящих путей (Figiel S.C. et al., 2012; Queiroz T.C. et al., 2014).

Описаны патоморфологические особенности билиарной атрезии и билиарной гипоплазии по результатам анализа биопсийного и секционного материала пораженной печени пациентов; биопсийного материала печени пациентов, перенесших операцию портоэнтеростомии по Kasai (Дегтярева А.В. с соавт., 2008; Lampela H. et al., 2013). Патоморфологические особенности билиарной атрезии и билиарной гипоплазии на стадии заболевания, когда пациентам требуется трансплантация печени, не изучены. Вместе с тем патоморфологические критерии, позволяющие обосновать необходимость, определить показания к проведению трансплантации печени у реципиентов, страдающих билиарной атрезией и билиарной гипоплазией, сформировать концепцию о целесообразности и эффективности операции портоэнтеростомии по Kasai, наиболее точно могут быть определены в процессе исследования печени пациентов, удаленной непосредственно перед трансплантацией донорского органа.

На основании вышеизложенного были сформулированы следующие цель и задачи исследования.

Цель исследования. Выявить патоморфологические признаки билиарной атрезии и билиарной гипоплазии, характеризующие течение и прогноз заболевания и определяющие показания к трансплантации печени у детей раннего возраста.

Задачи исследования

1. Изучить патоморфологию терминальной стадии билиарной атрезии у детей-реципиентов и обосновать необходимость трансплантации печени.
2. Провести сравнительный патоморфологический анализ печени, удаленной при трансплантации у детей с билиарной атрезией, перенесших и не перенесших предшествующую операцию портоэнтеростомии по Kasai.

3. Провести сравнительный анализ морфологической структуры печени у детей-реципиентов при синдромальной и несиндромальной формах билиарной гипоплазии.
4. Выявить патоморфологические дифференциально-диагностические критерии билиарной атрезии и билиарной гипоплазии у детей–реципиентов печени и сформулировать на их основе концепцию по определению целесообразности и оправданности оперативного вмешательства до трансплантации печени у пациентов с билиарной гипоплазией.

Научная новизна исследования

Впервые у пациентов с билиарной атрезией и билиарной гипоплазией проведено исследование патоморфологии печени, удаленной при операции трансплантации, на основании которого сформулирована концепция о необратимости поражения печени при билиарной атрезии и билиарной гипоплазии и неизбежности трансплантации печени детям, страдающим указанными заболеваниями.

Впервые на основании выявленных различий в патоморфологии нативной печени детей с билиарной атрезией, перенесших и не перенесших операцию портоэнтеростомии по Kasai, было доказано, что операция портоэнтеростомии не предотвращает развитие цирроза печени.

Новыми являются данные о различиях патоморфологической картины печени при синдромальной и несиндромальной формах билиарной гипоплазии.

Впервые разработаны патоморфологические дифференциально-диагностические критерии и алгоритм проведения дифференциальной диагностики билиарной атрезии и билиарной гипоплазии, который может служить основой определения тактики лечения и позволит избежать неоправданного паллиативного оперативного вмешательства.

Практическая значимость исследования

Полученные результаты сравнительного анализа печени пациентов с билиарной атрезией, перенесших до трансплантации операцию портоэнтеростомии и не переносивших оперативного вмешательства, явились объективным обоснованием представления о предпочтительности выполнения трансплантации печени без предварительного проведения операции портоэнтеростомии по Kasai.

Патоморфологические различия в печени у пациентов с синдромальной и несиндромальной билиарной гипоплазией имеют значение для определения сроков трансплантации печени: при несиндромальной билиарной гипоплазии необходимость в пересадке печени возникает на первом году жизни, а при синдромальной форме заболевания пересадка печени может быть осуществлена в более поздние сроки.

Выявленные патоморфологические отличия билиарной атрезии и билиарной гипоплазии могут использоваться в клинической практике патологоанатомов при проведении дифференциальной диагностики этих заболеваний.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования нашли клиническое применение в хирургическом отделении № 2 ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России. Основные результаты исследования включены в программу обучения студентов шестого курса на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 26 сентября 2014 г. на совместной конференции научных и клинических подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России.

Материалы и основные результаты работы доложены и обсуждены на I национальном конгрессе «Трансплантация и донорство органов» – Москва (2013), VII Всероссийском съезде трансплантологов – Москва (2014).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 4 статьи в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из общей характеристики работы, трех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и указателя использованной литературы. Работа изложена на 129 страницах машинописного текста, иллюстрирована 15 таблицами и 48 рисунками. Список литературы включает 16 названий на русском и 103 на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика материала исследования

В исследование включены дети (n = 71), которым в период с мая 2008-го по август 2012 г. была выполнена трансплантация фрагмента печени от живого родственного донора.

Сорок девять детей (17 мальчиков и 32 девочки) страдали билиарной атрезией. В зависимости от того, выполнялась ли пациентам предшествующая операция портоэнтеростомии по Kasai, были сформированы две группы: 1-я группа – 21 ребенок (7 мальчиков, 14 девочек) в возрасте от 4 до 11 мес. (средний возраст 6,4 ± 0,5 мес.) с билиарной атрезией, без предшествующего оперативного вмешательства до трансплантации печени; 2-я группа – 28 детей (10 мальчиков, 18 девочек) в возрасте от 5 мес. до 7,5 года (средний возраст 14,9 ± 3,25 мес.). Этим пациентам была выполнена операция портоэнтеростомии по Kasai и в последующем трансплантация фрагмента печени. Возраст пациентов в основном составлял от пяти месяцев до одного года (n = 21; 75%). Гораздо меньше было пациентов в возрасте от одного года до трех с половиной лет (n = 6; 21,4%), и только один ребенок достиг возраста 7,5 года (3,6%). Большинство пациентов (92,9%) страдали несиндромальным вариантом билиарной атрезии. Однако у двоих детей (7,1%) билиарная атрезия сочеталась с множественными аномалиями внутренних органов.

Операция портоэнтеростомии по Kasai была выполнена девяти пациентам (32,1%) в возрасте от одного до двух месяцев (в среднем 45 ± 3,35 дня); одиннадцати больным (39,3%) – в возрасте от двух до трех месяцев (в среднем – 75,9 ± 3 дня); восьми пациентам (28,6%) – в возрасте более 3 мес. (в среднем 123,5 ± 8,35 дня).

Двадцать два ребенка страдали билиарной гипоплазией, по поводу которой была выполнена трансплантация фрагмента печени. В зависимости от формы билиарной гипоплазии пациенты были разделены на две группы.

Группа с синдромальной формой билиарной гипоплазии – 10 детей (2 мальчика, 8 девочек) в возрасте от пяти месяцев до пяти лет (средний возраст 21,3 ± 5,88 мес.). У этих пациентов выявлены экстрапеченочные аномалии внутренних органов.

Основанием для постановки клинического диагноза «синдром Alagille» служило наличие трех из пяти характерных клинических признаков: 1) холестаз; 2) стеноз легочной артерии и/или другие аномалии сердца; 3) аномалии скелета (чаще всего бабочковидная деформация дуг грудных позвонков); 4) аномалии глаз (задний эмбриотоксон); 5) характерные черты лица (Burt A.D. et al., 2006; Turnpenny P.D. et al., 2012). В данной группе

все пять клинических признаков присутствовали у одного больного, четыре – у двоих, три – у пяти и два характерных признака – у двух пациентов.

На основании клинических данных из десяти пациентов с синдромальной билиарной гипоплазией у 80% больных был выявлен синдром Alagille, а в 20% наблюдений – билиарная гипоплазия с синдромальными проявлениями.

Группа с несиндромальной формой билиарной гипоплазии: 12 детей (8 мальчиков, 4 девочки) в возрасте от 4 до 13 мес. (средний возраст 7,3 ± 0,91 мес.)

Методы исследования

Оценка клинических показателей. Оценка клинических показателей проводилась на анализе данных истории болезни пациентов, включающих: анамнез жизни, анамнез заболевания, семейный анамнез, результаты инструментальных методов исследования и протокол операции.

Материалом исследования служила печень пациентов, удаленная при операции трансплантации фрагмента печени от живого родственного донора.

Морфологические методы. Морфологические методы включали макроскопическое описание и гистологическое исследование образцов удаленной печени пациентов. Гистологический материал фиксировали в 10% забуференном растворе формалина (pH 6,8–7), обезвоживали в спиртах восходящей крепости, заливали в парафиновые блоки, из которых готовили срезы толщиной 4–5 мкм на микротоме фирмы Leica RM 2145. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, трихромом по Массону, а также проводили PAS-реакцию. Изучение гистологических срезов осуществляли с помощью микроскопа Leica DM6000 B.

Выраженность воспалительно-деструктивных изменений в удаленной печени оценивали с использованием модифицированного индекса гистологической активности K. Ishak, а также оценивали дистрофические изменения в гепатоцитах, степень выраженности интрацеллюлярного и протокового холестаза, наличие или отсутствие гигантоклеточной трансформации гепатоцитов, выраженность дуктопении и/или пролиферации желчных протоков в портальных трактах и фиброзных септах, наличие признаков нарушения развития протоковой пластины. Для оценки степени фиброза использовали индекс Desmeth.

Методы статистического анализа. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 7.0 (Statsoft, США), и MS Office Excel (Microsoft, США). Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение (M ± a). Результаты обрабатывали с использованием непараметрических методов. Выбор непараметрических методов связан с тем, что их можно использовать на малых выборках, они не требуют предположения о нор-

мальности распределения выборки и не имеют ограничений по точности измерений. Для анализа количественных данных использовали U-критерий Манна–Уитни. Для анализа качественных признаков применяли критерий χ^2. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Патоморфология печени пациентов с билиарной атрезией без оперативного вмешательства до трансплантации

Пролиферация желчных протоков была выявлена у всех пациентов с билиарной атрезией без предшествующей операции портоэнтеростомии. Форма желчевыводящих протоков не была изменена, однако у 14 детей (66,7%) в холангиоцитах желчных протоков были отек и дистрофические изменения (рис. 1). В некоторых желчных протоках встречались выраженные дистрофические изменения холангиоцитов, с секвестрацией их в просвет канальцев. В 11 наблюдениях (52,4%) в желчных протоках определяется некроз холангиоцитов с полным исчезновением эпителиальной выстилки. В этих протоках имелись выраженные желчные тромбы.

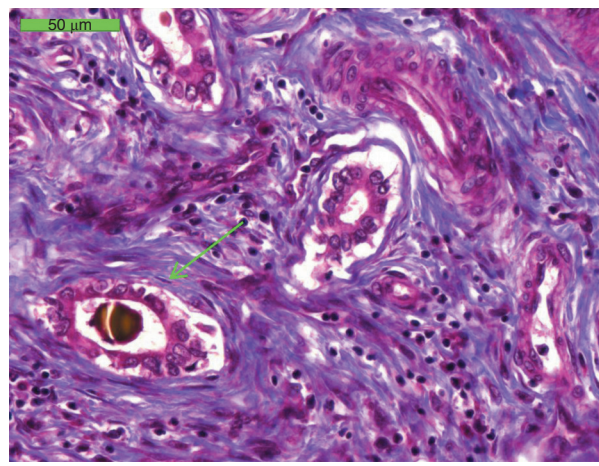


Рис. 1. **Пролиферация желчных протоков с отеком и дистрофическими изменениями холангиоцитов у девочки пяти месяцев с билиарной атрезией без предшествующей операции Kasai (ГИ № 1207-10). Окраска трихромом по Массону. ×400**

Пролиферация желчных протоков у большинства пациентов сопутствовала развитию цирроза печени, который был выявлен у 19 больных детей (90,5%) (рис. 2).

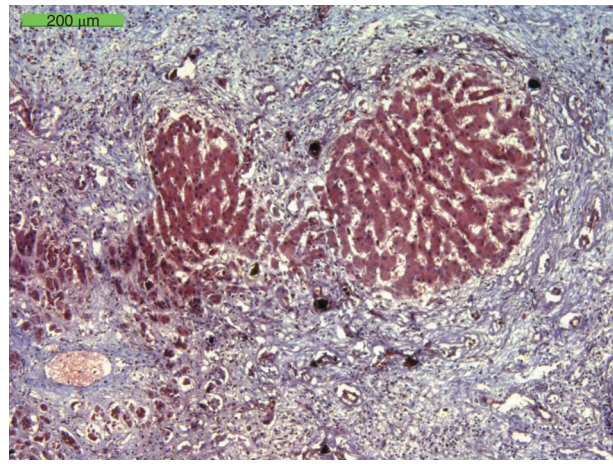


Рис. 2. **Цирроз печени у мальчика восьми месяцев с билиарной атрезией без предшествующей операции Kasai (ГИ № 5974-82). Окраска трихромом по Массону. ×100**

У двоих пациенток, девочек четырех и пяти месяцев, имелся фиброз печени F-3. Выраженность фиброза/цирроза печени также оценивалась в баллах с использованием индекса Desmeth и составила 3,9 ± 0,07 балла.

У двоих (9,5%) девочек пяти месяцев выявили признаки нарушения развития протоковой пластины: округлые клетки, напоминающие холангиоциты с крупными ядрами.

Морфологические признаки холестаза имелись у подавляющего большинства пациентов (95,2%). Однако его выраженность была различной. Так, внутриклеточный холестаз или застой желчи в желчных капиллярах имелся у 16 пациентов (76,2%). В трех наблюдениях (14,3%) в паренхиме печени были сформированы псевдотубулы, образованные гепатоцитами и заполненные желчью. Холестаз в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ обнаружен у 18 пациентов (85,7%). Наличие признаков холестаза как в дольках, так и в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ выявлено у 14 больных детей (66,7%). У семи пациентов (33,3%) мы визуализировали деструкцию стенки желчных протоков с выходом желчи в окружающее пространство и формирование «желчных озер».

Полиморфизм гепатоцитов с появлением гигантских, многоядерных клеток в нашем исследовании был выявлен у шести пациентов (28,6%).

Воспалительно-деструктивные изменения в печени мы оценивали в баллах с использованием модифицированного индекса гистологической активности Ishak. Суммарная гистологическая активность у пациентов с билиарной атрезией без предшествующего оперативного вмешательства составила 3,3 ± 0,51 балла. Воспалительные изменения были выявлены

у 18 пациентов (85,7%). У этих детей были обнаружены клеточные инфильтраты в портальных трактах и фиброзных септах, состоящие преимущественно из лимфоцитов, однако у четырех детей (19%) в составе клеточного инфильтрата были нейтрофилы, эозинофилы и плазматические клетки. Однако во всех наблюдениях воспалительная инфильтрация носила легкий характер.

Перипортальные перисептальные некрозы имелись у 13 пациентов (61,9%) с билиарной атрезией; причем у 10 из них были небольшие очаги некрозов, которые располагались преимущественно перипортально. Деструктивные изменения при этом носили легкий характер.

В трех наблюдениях обнаружены умеренные перипортальные некрозы, занимающие менее 50% перипортальных и перисептальных зон. И только в одном наблюдении, у мальчика восьми месяцев, перипортальный некроз охватывал более 50% перипортальных и перисептальных зон.

Внутридольковые фокальные некрозы имели место у 10 пациентов (47,6%). У четырех пацентов внутридольковые фокальные некрозы имели легкий характер (не более одного очага на 10 полей зрения по шкале Ishak). У пяти пациентов были умеренные очаги некроза гепатоцитов (от 5 до 10 очагов некроза на 10 полей зрения), а у одного пациента (мальчика восьми месяцев) в паренхиме печени выявлены обширные мостовидные некрозы.

Таким образом, при исследовании патоморфологии печени пациентов при терминальной стадии билиарной атрезии, потребовавший выполнения трансплантации печени, выявляются пролиферация желчных протоков, отек и дистрофические изменения холангиоцитов, склеротические изменения стенки желчных протоков с исчезновением эпителиальной выстилки, холестаз различной степени выраженности. Эти морфологические изменения сопутствовали развитию билиарного цирроза печени у детей на первом году жизни.

Патоморфология печени пациентов с билиарной атрезией, перенесших до трансплантации операцию Kasai

У всех пациентов была выявлена пролиферация желчных протоков. У большего числа пациентов (89,3%) отмечен тотальный некроз холангиоцитов желчных протоков, с полным исчезновением эпителиальной выстилки (рис. 3); у девяти пациентов (32,1%) были выявлены дистрофические изменения и отек холангиоцитов желчных протоков. В трех наблюдениях (10,7%) визуализировали желчные протоки и с дистрофическими изменениями холангиоцитов, и с отсутствием эпителиальной выстилки.

Морфологические признаки холестаза с различным сочетанием локализации желчи имелись у 23 пациентов (82,1%). Из них у 16 пациентов

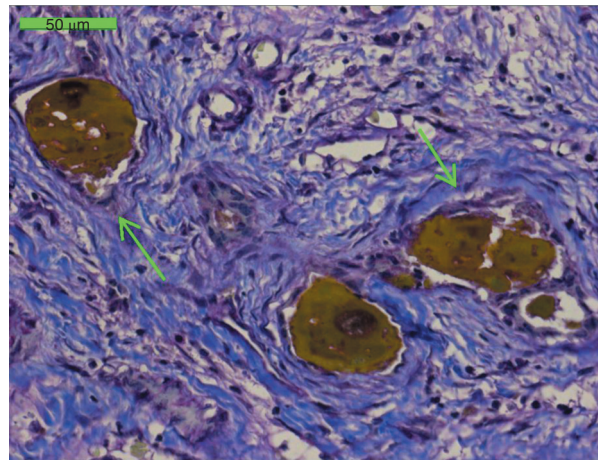


Рис. 3. **Деструкция стенки желчных протоков с исчезновением эпителиальной выстилки. Желчные протоки расширены за счет выраженного холестаза у девочки восьми месяцев с билиарной атрезией с предшествующей операцией Kasai (ГИ № 0206-07). Окраска трихромом по Массону. ×400**

(57,1%) мы отметили внутриклеточный холестаз, у такого же числа больных детей – застой желчи в желчных капиллярах. В 21 наблюдении (75%) встречали застой желчи в желчных протоках. У 11 пациентов (39,3%) имелись деструктивные изменения стенки желчных протоков с выходом желчи в окружающее пространство и формированием «желчных озер».

Признаки нарушения развития протоковой пластины выявили только в четырех наблюдениях (14,3%).

Перипортальные и перисептальные некрозы были обнаружены у восьми пациентов (28,6%), причем у шести больных детей они соответствовали легкой степени, и только у двух пациентов мы наблюдали некрозы умеренной степени выраженности, охватывающие менее 50% перипортальных и перисептальных участков паренхимы печени. Внутридольковые фокальные некрозы имелись у 13 пациентов (46,4%).

У большего числа пациентов (32,1%) внутридольковые фокальные некрозы были легкой степени. В четырех наблюдениях (14,3%) мы визуализировали до 10 мелких очагов внутридольковых некрозов в 10 полях зрения в соответствии со шкалой Ishak, что эквивалентно умеренной выраженности деструктивных изменений. Тяжелые деструктивные изменения паренхимы печени в наших наблюдениях отсутствовали.

Воспалительная инфильтрация определялась у 15 пациентов (53,6%). Во всех наблюдениях воспалительная инфильтрация имела легкий характер, не выходила за пограничную пластинку трактов и выявлялась только в нескольких портальных трактах. Состав клеточного инфиль-

трата был мононуклеарным в 15 наблюдениях (53,6%), а у одного пациента (3,6%) в лимфоидно-клеточном инфильтрате присутствовали нейтрофильные лейкоциты. Тем не менее суммарная оценка гистологической активности, включая исследование некротических изменений и выраженности воспалительной инфильтрации, составила 2 ± 0,29 балла, что соответствует минимальной степени воспалительно-деструктивных изменений.

В данной группе цирроз печени был выявлен у подавляющего большинства пациентов (96,4%) (рис. 4).

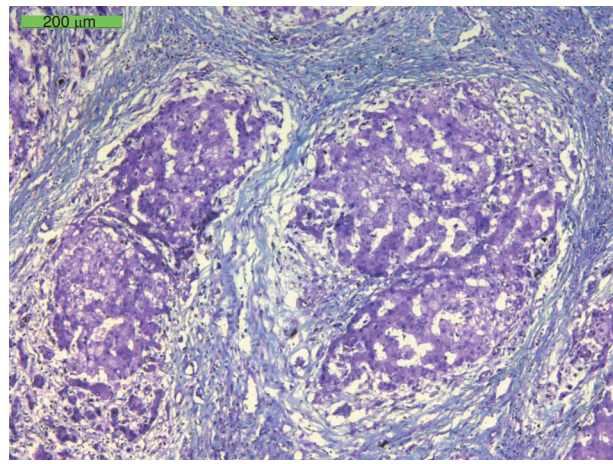


Рис. 4. **Цирроз печени у девочки 12 мес. с билиарной атрезией с предшествующей операцией Kasai (ГИ № 5758-60). Окраска трихромом по Массону. ×100**

Среди других патоморфологичских признаков можно выделить следующие:

– перисинусоидальный фиброз (n = 11; 39,3% детей);
– гигантоклеточная трансформация гепатоцитов (n = 8; 28,6% детей);
– склероз интимы артерий портальных трактов (n = 5; 17,9% детей).

Исходя из результатов проведенного исследования выявлено, что у подавляющего большинства пациентов с билиарной атрезией операция портоэнтеростомии по Kasai не предотвращает развития цирроза печени.

Сравнительная патоморфологическая характеристика печени пациентов с билиарной атрезией в зависимости от факта проведения операции Kasai

При изучении макроскопических изменений в печени достоверных различий в цвете паренхимы или ее консистенции не выявлено. Также не

было выявлено достоверных различий в структуре крупных внутрипеченочных желчных протоков.

У всех пациентов обеих групп имелась пролиферация желчных протоков. Однако структура пролиферированных желчных протоков у детей без предшествующей портоэнтеростомии и пациентов с операцией Kasai в анамнезе была различной.

Отек и дистрофические изменения холангиоцитов достоверно чаще встречались у пациентов без оперативных вмешательств в анамнезе (n = 14; 66,7%), чем у пациентов, которым портоэнтеростомия выполнялась (n = 9; 32,1%) (p = 0,035).

У подавляющего большинства пациентов в группе с портоэнтеростомией в анамнезе (n = 25; 89,3%) желчные протоки были фиброзированы, при этом эпителиальная выстилка их отсутствовала, а в группе детей, которым операция Kasai не выполнялась, данные патоморфологические изменения имелись только у 11 пациентов (52,4%) (p = 0,01).

Изучение патоморфологической картины печени у детей как без операции Kasai в анамнезе, так и после ее проведения не показало статистически значимых различий в выраженности внутриклеточного холестаза, а также застоя желчи в желчных капиллярах и желчных протоках. Также не выявлено различий в частоте деструктивных изменений стенок желчных протоков с выходом желчи в окружающие ткани и формированием «желчных озер».

При определении индекса гистологической активности были получены статистически значимые отличия в степени воспалительно-деструктивных изменений у пациентов данных групп. Так, суммарная оценка воспалительно-деструктивных изменений печени была более выражена у пациентов с билиарной атрезией без предшествующей операции Kasai (3,3 ± 0,51), чем у пациентов с портоэнтеростомией в анамнезе (2 ± 0,29) (p = 0,024). При этом гистологическая активность в обеих группах имела слабовыраженный характер.

Формирование перипортальных некрозов достоверно чаще встречалось у пациентов без предшествующей портоэнтеростомии (n = 13; 62%), чем у пациентов второй группы (n = 8; 28,6%) (p = 0,041). Статистически значимых различий в частоте формирования внутридольковых фокальных некрозов не выявлено.

Воспалительная инфильтрация достоверно чаще выявлялась у пациентов без оперативных вмешательств в анамнезе (n = 18; 85,7%), чем в группе пациентов, которым выполнялась портоэнтеростомия (n = 15; 53,5%) (p = 0,04). В обеих группах воспалительный инфильтрат в основном был представлен лимфоцитами и в меньшей степени нейтрофилами и плазматическими клетками.

У подавляющего большинства пациентов с билиарной атрезией как без оперативных вмешательств на желчевыводящих протоках (n = 19; 90,5%),

так и с предшествующей операцией Kasai (n = 27; 96,4%) был выявлен цирроз печени.

Нами был обнаружен сформированный перисинусоидальный фиброз у трех пациентов (14,2%) первой группы и у одиннадцати больных с предшествующей операцией Kasai (39,2%), однако различия в частоте данного признака статистически не достоверны. Также достоверных различий не было выявлено при сравнении частоты склеротических изменений интимы артерий портальных трактов.

Кроме того, у пациентов с билиарной атрезией были обнаружены гигантоклеточная трансформация гепатоцитов, кольцевидное распределение хроматина в ядрах гепатоцитов («песочные ядра»), белковая и жировая дистрофия гепатоцитов, расширение и полнокровие синусоидов, а также псевдотубулы, образованные гепатоцитами и содержащие желчь. Данные признаки почти в равной степени встречались у пациентов как первой, так и второй группы.

Таким образом, по результатам сравнительного анализа было установлено, что операция портоэнтеростомии по Kasai не предотвращает развития склероза внутрипеченочных желчных протоков, фиброза, а затем и цирроза печени. Это обосновывает предпочтительность проведения трансплантации печени, без предварительного выполнения портоэнтеростомии.

Патоморфология печени пациентов с синдромальной формой билиарной гипоплазии

Исчезновение желчных протоков портальных трактов в данной группе было выявлено у 90% пациентов. В большинстве портальных трактов при наличии артерии и вены отсутствовали желчные протоки. Следует отметить, что дуктопения имелась и у двух больных без явных клинических признаков синдрома Alagille – девочек 14 мес. и 5 лет.

Пролиферация желчных протоков легкой или умеренной степени в порто-портальных фиброзных септах в сочетании с дуктопенией в портальных трактах была отмечена у трех пациентов (30%). У одного больного (10%) – мальчика девяти месяцев с явными признаками синдрома Alagille (синдром холестаза, характерный лицевой фенотип, дефект межжелудочковой перегородки, дисплазия почек) – дуктопения отсутствовала, а в портальных трактах и фиброзных септах была выраженная пролиферация желчных протоков.

У трех пациентов (30%) холангиоциты желчных протоков были дистрофически изменены, часть из них – некротизированы. У одной пациентки, девочки 10 месяцев, имелись расширенные желчные протоки, заполненные желчью; при этом эпителиальная выстилка отсутствовала в связи с тотальным некрозом.

В данной группе пациентов пролиферация желчных протоков сочеталась с развитием цирроза печени у троих пациентов (30%). У одного больного (10%) пролиферация желчных протоков сопутствовала развитию фиброза печени F-3 по Desmeth.

У шести пациентов с дуктопенией и без пролиферации желчных протоков цирроз печени отсутствовал, однако развился фиброз 1–3-й степени: фиброз печени F-3 – у двух пациентов с дуктопенией, фиброз F-2 – у двух пациентов, а у двух больных детей фиброз печени соответствовал степени F-1 по Desmeth (рис. 5).

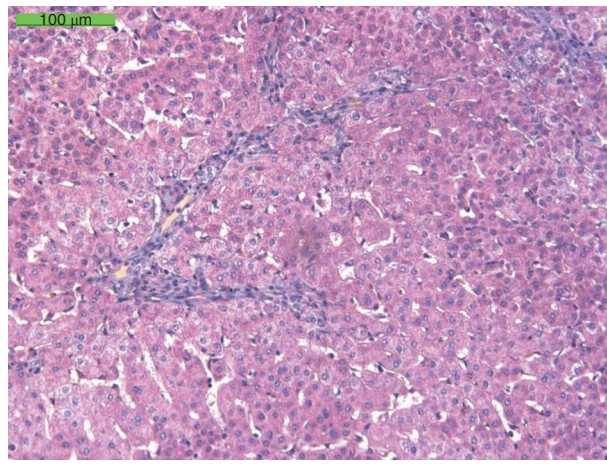


Рис. 5. **Фиброз печени F-1 (по Desmeth) у девочки пяти лет, страдающей билиарной гипоплазией с синдромальными проявлениями (ГИ № 3799-3803). Окраска трихромом по Массону. ×200**

Общая оценка степени развития фиброза печени составила 2,7 ± 0,37 балла. Перисинусоидальный фиброз, определяемый как разрастание фиброзной ткани вдоль синусоидов, был выявлен у 40% пациентов.

Гистологические признаки холестаза, такие как интрацеллюлярный холестаз, накопление желчи в желчных капиллярах, а также в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ, были выявлены у большинства пациентов. Интрацеллюлярный холестаз был выявлен у восьми пациентов (80%), накопление желчи в желчных капиллярах – также у 80% больных. Признаки интрацеллюлярного холестаза и застоя желчи в желчных капиллярах у большинства пациентов имели легкий характер. Застой желчи в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ был у пяти детей (50%). Выраженный холестаз в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ имел место у всех пациентов с пролиферацией желчных протоков (4 пациента). Возраст этих детей варьировал от 5

до 10 мес. У одного больного с синдромом Alagille в сохранившихся единичных желчных протоках были легкие признаки протокового холестаза.

Степень гистологической активности мы оценивали в баллах с использованием шкалы Ishak. У трех пациентов (30%) были выявлены слабо выраженные внутридольковые фокальные некрозы, а у одного пациента с синдромом Alagille – более обширные внутридольковые некрозы. Перипортальные или перисептальные очаги некроза легкой степени были выявлены у четырех пациентов (40%).

Воспалительная инфильтрация портальных трактов имелась у 60% пациентов, была слабовыраженной и представлена в основном малыми лимфоцитами. В одном наблюдении инфильтрация была умеренной степени, состоящей главным образом из мононуклеаров с небольшой примесью полинуклеарных лейкоцитов. Зона инфильтрации выходила за пределы портальных трактов.

Совокупность зон некроза гепатоцитов и инфильтрации портальных трактов/фиброзных септ давала суммарный индекс гистологической активности 2,4 ± 0,52 балла. Следует подчеркнуть, что во всех наблюдениях у пациентов с синдромальной билиарной гипоплазией воспалительно-некротические изменения имели слабовыраженный характер.

У одного пациента (10%) имелась умеренная гигантоклеточная трансформация гепатоцитов. В трех наблюдениях (30%) при синдромальной форме билиарной гипоплазии в мышечном слое артерий портальных трактов была выявлена атрофия гладкомышечных клеток с замещением их соединительной тканью.

Таким образом, у пациентов с синдромальной билиарной гипоплазией, в печени которых превалировала дуктопения, имелся фиброз печени F-1 и F-2 (по Desmeth). У больных детей с синдромальной билиарной гипоплазией, характеризующейся пролиферацией желчных протоков, чаще развивается цирроз печени.

Патоморфология печени пациентов с несиндромальной формой билиарной гипоплазии

Пролиферация желчных протоков у пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией определялась в восьми наблюдениях (66,7%). Причем у шести больных имелись дистрофия и отек холангиоцитов, а в двух наблюдениях – тотальный некроз эпителиальной выстилки желчных протоков.

В шести наблюдениях (50%) помимо пролиферированных желчных протоков встречались клетки, напоминающие холангиоциты с крупными округлыми ядрами, которые располагались диффузно и мелкими группами, формируя «дуктулоподобные» структуры в фиброзных септах и портальных трактах (рис. 6).

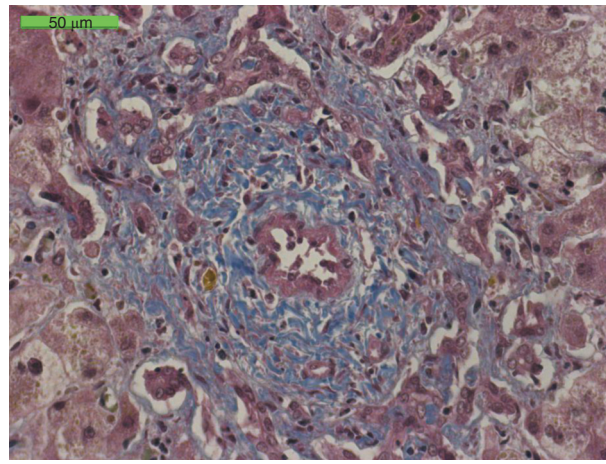


Рис. 6. **«Дуктулоподобные структуры» располагаются кольцом вокруг сосудистого пучка в портальном тракте у девочки шести месяцев с несиндромальной билиарной гипоплазией (ГИ № 4057-60). Окраска трихромом по Массону. ×400**

Дуктопения в данной группе пациентов была обнаружена только у четырех больных (33,3%).

Пролиферация желчных протоков сочеталась с развитием цирроза печени во всех наблюдениях. У трех пациентов с морфологической картиной дуктопении также развивался цирроз печени, и у одного больного дуктопения сочеталась с фиброзом печени F-3 (по Desmeth). Важно отметить, что цирроз печени у пациентов с несиндромальной формой билиарной гипоплазии развивался на первом году жизни. В итоге цирроз печени мы выявили у 11 пациентов (91,7%), а суммарная оценка степени развития фиброза/цирроза печени составила 3,9 ± 0,08 балла. Перисинусоидальный фиброз в нашем исследовании имелся у восьми детей (66,7%).

Холестаз был выявлен у большинства пациентов (83,3%). Он был различной локализации: интрацеллюлярный, холестаз в желчных капиллярах или желчных протоках портальных трактов. Так, интрацеллюлярный холестаз был выявлен у девяти больных (75%) с несиндромальной билиарной гипоплазией, накопление желчи в желчных капиллярах также у 75% пациентов, в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ – у восьми больных (66,7%). Признаки холестаза имели выраженный характер. Только у двух пациентов (16,7%) – мальчиков в возрасте одиннадцати и тринадцати месяцев – гистологические признаки застоя желчи отсутствовали.

У большинства пациентов с несиндромальной формой билиарной гипоплазии были внутридольковые фокальные некрозы и баллонная дистрофия гепатоцитов (75%) (рис. 7) и/или перипортальные некрозы (66,7%).

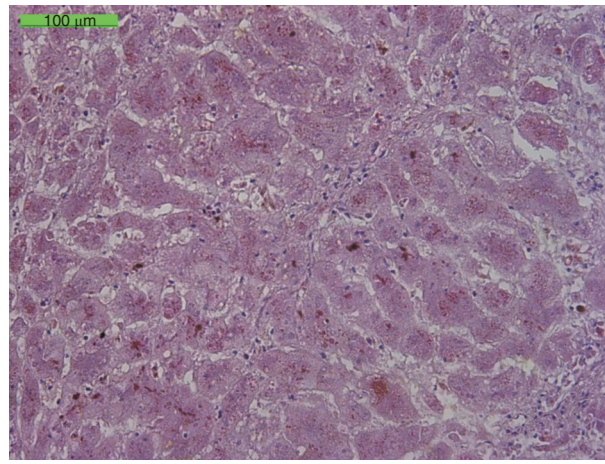


Рис. 7. **Зона обширного внутридолькового некроза печени у мальчика шести месяцев с несиндромальной билиарной гипоплазией (ГИ № 1367-69). Окраска гематоксилином и эозином. ×400**

Слабо выраженные внутридольковые фокальные некрозы имели место только у одного пациента (8,3%), а у большинства больных детей (58,4%) умеренные очаги внутридольковых фокальных некрозов (по шкале Ishak – 5–10 очагов на 10 полей зрения). У четырех больных (33,3%) определялись перипортальные некрозы легкой степени. Умеренные перипортальные ступенчатые некрозы, захватывающие большинство портальных трактов и/или перисептальных участков, имелись также у четырех пациентов (33,3%).

Воспалительная инфильтрация портальных трактов и фиброзных септ имелась у девяти детей (75%), причем у шести пациентов (50%) инфильтрация была легкой степени и не во всех портальных трактах. У трех детей (25%) воспалительная инфильтрация была умеренной степени, занимающей большинство портальных трактов и фиброзные септы. В основном воспалительный инфильтрат представлен мононуклеарами. В одном наблюдении инфильтрат состоял из мононуклеаров с примесью нейтрофильных лейкоцитов. Суммарная оценка воспалительно-некротических изменений составила 5,1 ± 0,66 балла. В данной группе пациентов выраженный полиморфизм гепатоцитов с большим количеством гигантских многоядерных гепатоцитов встретился у шести пациентов (50%).

Таким образом, при несиндромальной форме билиарной гипоплазии в большем количестве наблюдений развивается пролиферация желчных протоков, в меньшем – дуктопения. У подавляющего большинства пациентов прогрессирует фиброз и развивается цирроз печени на первом году жизни.

Сравнительная патоморфологическая характеристика печени пациентов с синдромальной и несиндромальной формой билиарной гипоплазии

Статистически значимых различий при описании макроскопической структуры печени мы не выявили.

Анализируя микроскопическую картину у пациентов с синдромальной и несиндромальной формой билиарной гипоплазии, мы выявили статистически значимые различия в отношении дуктопении. Так, достоверно чаще данный патоморфологический признак встречается у пациентов с синдромальной билиарной гипоплазий ($n = 4$), чем у пациентов с несиндромальной формой заболевания ($n = 9$) ($p = 0{,}024$).

Статистически значимых различий в отношении пролиферации желчных протоков не было выявлено.

В группе пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией достоверно чаще выявлялись патоморфологические признаки нарушения развития протоковой пластины ($p = 0{,}03$), чем в группе с синдромальной формой заболевания.

При сравнении степени холестаза в группах синдромальной и несиндромальной билиарной гипоплазии статистически значимых различий не получено. При обеих формах билиарной гипоплазии был выявлен умеренный интрацеллюлярный холестаз, накопление желчи в желчных капиллярах, в желчных протоках портальных трактов и фиброзных септ.

Достоверных различий в частоте формирования перипортальных и внутридольковых фокальных некрозов у пациентов с синдромальной и несиндромальной формой заболевания мы не выявили. Однако в группе пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией некротические изменения как в перипортальных зонах, так и в дольках печени были более выраженными. Достоверные различия в частоте встречаемости воспалительных инфильтратов у пациентов обеих групп отсутствуют, но ее интенсивность была больше у пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией. В связи с этим при суммарной оценке выраженности гистологической активности печени у пациентов с билиарной гипоплазией установлено, что в группе детей с несиндромальной формой заболевания воспалительно-деструктивные изменения были достоверно более выраженными ($5{,}1 \pm 0{,}66$ балла), чем у пациентов с синдромальной формой заболевания ($2{,}4 \pm 0{,}52$ балла) ($p = 0{,}008$).

Цирроз печени чаще встречался у пациентов с несиндромальной формой заболевания, чем в группе детей с синдромальной билиарной гипоплазией ($p = 0{,}01$). Гистологические признаки цирроза были выявлены у 11 пациентов (91,7%) с несиндромальной билиарной гипоплазией, тогда как цирроз печени при синдромальной форме билиарной гипоплазии мы наблюдали только у троих больных (30%). При суммарной оценке выра-

женности фиброза/цирроза печени также были установлены достоверные различия (p = 0,001). У пациентов с несиндромальной формой заболевания суммарная оценка составила 3,9 ± 0,07 балла, тогда как у детей с синдромальной формой только 2,7 ± 0,37 балла. Выраженный полиморфизм гепатоцитов с появлением большого количества гигантских многоядерных гепатоцитов достоверно чаще встречался у пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией (n = 6), чем у больных с синдромальной формой заболевания (n = 1) (p = 0,04).

При синдромальной форме билиарной гипоплазии в отличие от несиндромальной формы реже и в более позднем возрасте развивается цирроз печени. В связи с этим при несиндромальной форме билиарной гипоплазии необходимость в трансплантации печени возникает на первом году жизни, а при синдромальной форме – в более поздние сроки.

Сравнительная патоморфологическая характеристика билиарной атрезии и билиарной гипоплазии

Среди пациентов с билиарной атрезией дуктопения не была выявлена ни в одном наблюдении, а у пациентов с билиарной гипоплазией данный патоморфологический признак имелся у 90% детей с синдромальной (p = 0,001), и у 33,3% больных с несиндромальной формой заболевания (p = 0,023).

Пролиферированные желчные протоки имелись в обеих исследуемых группах, однако данный признак достоверно чаще встречался при билиарной атрезии, чем у пациентов с синдромальной (p = 0,001) или несиндромальной билиарной гипоплазией (p = 0,03).

Были обнаружены существенные различия в структуре пролиферированных желчных протоков у пациентов в исследуемых группах. Так, у 11 пациентов с билиарной атрезией имелся фиброз стенки желчных протоков с исчезновением эпителиальной выстилки. Подобные признаки встречались только у одного пациента с синдромальной билиарной гипоплазией (p = 0,02) и у двух больных с несиндромальной формой билиарной гипоплазии (p = 0,04). Достоверных различий в частоте выявления желчных протоков с дистрофическими изменениями и отеком холангиоцитов в сравниваемых группах не обнаружено.

Деструктивные изменения стенки желчных протоков и выход желчи в окружающее пространство с формированием «желчных озер» имелись у семи пациентов с билиарной атрезией (33,3%) и отсутствовали у больных детей с синдромальной (p = 0,04) и несиндромальной формой билиарной гипоплазии (p = 0,02).

При описании патоморфологических признаков нарушения развития протоковой пластины у детей с билиарной атрезией и билиарной гипоплазией было выявлено достоверно более частое формирование данных

изменений у пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией ($p = 0,01$). При сравнении билиарной атрезии и синдромальной билиарной гипоплазии достоверных различий в частоте этих признаков не выявлено.

Перисинусоидальное разрастание соединительной ткани реже формируется у больных с билиарной атрезией, чем у пациентов с несиндромальной билиарной гипоплазией ($p = 0,007$). Частота перисинусоидального фиброза при сравнении групп пациентов с билиарной атрезией и синдромальной билиарной гипоплазией не различалась.

При сравнении суммарной гистологической активности воспалительно-деструктивных изменений выявлено, что у пациентов с билиарной атрезией менее выражены воспалительно-деструктивные изменения в паренхиме печени ($p = 0,034$) по сравнению с несиндромальной формой билиарной гипоплазии. Однако различий в частоте выявления отдельных признаков, таких как перипортальные или внутридольковые некрозы, воспалительная инфильтрация, не получено. Статистически значимых различий не получено при сравнении активности воспалительно-деструктивных изменений у больных с билиарной атрезией и синдромальной формой билиарной гипоплазии.

Формирование цирроза печени достоверно более часто происходит у пациентов с билиарной атрезией по сравнению с пациентами, страдающими синдромальной формой билиарной гипоплазии ($p = 0,002$). Напротив, у пациентов с синдромальной билиарной гипоплазией чаще отмечаются признаки фиброза печени F-1 ($p = 0,03$) и F-2 ($p = 0,03$).

Достоверных различий в частоте возникновения цирроза печени у пациентов с билиарной атрезией и несиндромальной билиарной гипоплазией не получено, и цирроз печени почти в равной степени встречался у пациентов обеих сравниваемых групп.

При проведении дифференциальной диагностики билиарной атрезии и билиарной гипоплазии мы выделяли критерии, которые по результатам проведенного исследования встречаются достоверно чаще (↑) или достоверно реже (↓); критерии, которые отсутствуют в одной из исследуемых групп (–), и критерии, которые в большей или меньшей степени встречаются в обеих группах, но различия незначимы ($p > 0,05$) (+/–).

Нами были определены основные и дополнительные патоморфологические дифференциально-диагностические критерии билиарной атрезии и билиарной гипоплазии (табл.).

К основным патоморфологическим критериям относятся следующие: деструкция стенки желчных протоков и формирование «желчных озер», а также дуктопения. При проведении сравнительного анализа билиарной атрезии и билиарной гипоплазии дуктопения не была выявлена ни в одном наблюдении при билиарной атрезии, в связи с этим данный патоморфологический признак патогномоничен для билиарной гипоплазии.

Таблица

Патоморфологические дифференциально-диагностические критерии билиарной атрезии и билиарной гипоплазии

Признак	Синдромальная форма билиарной гипоплазии	Несиндромальная форма билиарной гипоплазии	Билиарная атрезия
Основные признаки			
Дуктопения	↑	↑	–
Деструкция стенки желчных протоков и формирование «желчных озер»	–	–	↑
Дополнительные признаки			
Пролиферация желчных протоков	↓	↓	↑
Фиброз стенки желчных протоков с исчезновением эпителиальной выстилки	↓	↓	↑
Цирроз печени	↓	+/–	↑
Пролиферация клеток желчного эпителия с образованием «дуктулоподобных структур»	+/–	↑	↓
Перисинусоидальный фиброз	+/–	↑	↓
Гистологическая активность по Ishak	+/–	Более 4–5 баллов	Менее 4 баллов

Деструктивные изменения стенки желчных протоков, с разрывами и формированием «желчных озер», отсутствуют в группе детей с билиарной гипоплазией. В связи с этим данный патоморфологический признак является патогномоничным для билиарной атрезии.

Кроме основных дифференциально-диагностических критериев следует обращать внимание на дополнительные критерии, свойственные данному заболеванию.

Такие гистологические признаки, как пролиферация клеток желчного эпителия, формирующих «дуктулоподобные структуры», перисинусоидальный фиброз, достоверно чаще встречаются при несиндромальной билиарной гипоплазии. Однако в редких случаях мы визуализировали эти признаки в печени пациентов с билиарной атрезией. В связи с этим для постановки диагноза необходим анализ гистологической активности в паренхиме печени. Установлено, что индекс гистологической активности достоверно более высокий у пациентов с билиарной гипоплазией, чем у пациентов с билиарной атрезией. Таким образом, сочетание пролиферации клеток желчного эпителия с формированием дуктулоподобных структур, наличие признаков перисинусоидального фиброза и гистологи-

ческой активности более 4–5 баллов подтверждают диагноз «билиарная гипоплазия».

При аналогичных морфологических изменениях и слабой гистологической активности (менее 4 баллов по шкале Ishak) ставится диагноз «билиарная атрезия».

Комплекс дополнительных признаков, таких как пролиферация желчных протоков с дистрофией холангиоцитов и отсутствие признаков нарушения развития протоковой пластины и перисинусоидального фиброза, достоверно чаще встречается у пациентов с билиарной атрезией.

На основании вышеизложенного разработан следующий алгоритм дифференциальной диагностики билиарной атрезии и билиарной гипоплазии.

Диагноз билиарной атрезии подтверждается:

1) при наличии в препарате печени пролиферированных желчных протоков с деструктивными их изменениями, разрывом стенок и формированием «желчных озер»;
2) пролиферации желчных протоков, наличии в препарате печени фиброза при отсутствии в препарате гипоплазированных клеток желчного эпителия, «дуктулоподобных структур» и перисинусоидального фиброза;
3) пролиферации желчных протоков в сочетании с фиброзом печени F-1 – F-4, наличии в препарате печени пролиферированных клеток желчного эпителия, формирующих «дуктулоподобные структуры» (признаки нарушения развития протоковой пластины), наличии перисинусоидального фиброза или без него в сочетании с воспалительно-некротическими изменениями в печени менее 4 баллов по шкале Ishak.

Диагноз билиарной гипоплазии подтверждается:

1) при дуктопении;
2) пролиферации желчных протоков в сочетании с фиброзом печени F-1 – F-4, наличием в препарате печени пролиферированных клеток желчного эпителия, формирующих «дуктулоподобные структуры» (признаки нарушения развития протоковой пластины), наличии перисинусоидального фиброза в сочетании с воспалительно-некротическими изменениями в печени более 4–5 баллов по шкале Ishak.

Результаты проведенного исследования печени, удаленной у детей при трансплантации, позволили выявить характерные патоморфологические признаки билиарной атрезии и билиарной гипоплазии и получить объективное подтверждение необратимости поражения печени при этих заболеваниях, что является обоснованием необходимости трансплантации. Кроме того, по результатам сравнительного патоморфологического анализа печени пациентов, перенесших и не перенесших операцию портоэнтеростомии по Kasai, доказано, что данная операция не предотвращает

развития цирроза печени у детей. Последнее обосновывает предпочтительность выполнения трансплантации печени без предварительного проведения операции портоэнтеростомии по Kasai. Выявленные патоморфологические дифференциально-диагностические критерии билиарной атрезии и билиарной гипоплазии являются основой для определения тактики лечения пациентов с билиарной гипоплазией.

ВЫВОДЫ

1. При терминальной стадии билиарной атрезии в удаленной нативной печени у детей-реципиентов выявляются пролиферация желчных протоков, отек и дистрофические изменения холангиоцитов, склеротические изменения стенки желчных протоков с исчезновением эпителиальной выстилки, холестаз различной степени выраженности. Развитие цирроза печени имеет место у 94% пациентов, что является обоснованием необходимости трансплантации печени.
2. У пациентов с билиарной атрезией без предшествующей операции портоэнтеростомии по Kasai по сравнению с пациентами, которым до трансплантации печени была выполнена подобная операция, чаще развиваются отек и дистрофические изменения холангиоцитов ($p = 0,035$), более выражены признаки воспалительного процесса в печени ($p = 0,024$), но реже обнаруживаются склеротические изменения желчных протоков и утрата их эпителиальной выстилки ($p = 0,01$).
3. Операция портоэнтеростомии по Kasai не предотвращает развития склероза внутрипеченочных желчных протоков, фиброза, а затем и цирроза печени. Частота развития цирроза печени не различается у пациентов с билиарной атрезией, не перенесших и перенесших операцию (90,5 и 96,4% соответственно, $p = 0,8$), что является обоснованием предпочтительности выполнения трансплантации печени без предварительного проведения операции портоэнтеростомии по Kasai.
4. При синдромальной форме билиарной гипоплазии в отличие от несиндромальной формы чаще развивается дуктопения ($p = 0,024$), менее выражены воспалительно-деструктивные изменения ($p = 0,008$) и реже выявляется пролиферация гипоплазированных желчных протоков ($p = 0,03$), а также реже ($p = 0,01$) и в более позднем возрасте ($p = 0,03$) развивается цирроз печени. Необходимость в трансплантации печени при несиндромальной форме билиарной гипоплазии возникает на первом году жизни, а при синдромальной форме – в более поздние сроки.
5. При билиарной атрезии в отличие от синдромальной и несиндромальной форм билиарной гипоплазии чаще обнаруживаются проли-

ферированные желчные протоки (p = 0,001 и p = 0,03 соответственно), фиброз стенки желчных протоков с утратой их эпителиальной выстилки (p = 0,02 и p = 0,04 соответственно), формирование «желчных озер» (p = 0,04 и p = 0,02 соответственно) и не выявляется дуктопения (p = 0,001 и p = 0,023 соответственно). При билиарной атрезии в отличие от несиндромальной билиарной гипоплазии менее выражены воспалительно-некротические изменения (p = 0,034), перисинусоидальный фиброз (p = 0,007) и патоморфологические признаки нарушения развития протоковой пластины (p = 0,01).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При затруднении в постановке диагноза «билиарная атрезия» или «билиарная гипоплазия» рекомендуется в дотрансплантационном периоде выполнять биопсию печени для точной морфологической дифференциации этих заболеваний, так как при последней отсутствуют показания к операции портоэнтеростомии по Kasai, что позволит избежать неоправданного оперативного вмешательства.
2. При проведении дифференциальной диагностики билиарной атрезии и билиарной гипоплазии основными дифференциальными признаками являются наличие деструктивно-измененных желчных протоков с разрывом стенок и формированием «желчных озер» при билиарной атрезии, дуктопения при билиарной гипоплазии.
3. При отсутствии основных дифференциально-диагностических патоморфологических признаков и наличии в препарате печени пролиферированных клеток желчного эпителия, формирующих «дуктулоподобные структуры», особое внимание следует обращать на выраженность воспалительно-деструктивных изменений в печени: менее 4 баллов по шкале Ishak при билиарной атрезии и более 4–5 баллов по шкале Ishak при билиарной гипоплазии.
4. При несиндромальной форме билиарной гипоплазии в связи с фульминантным развитием цирроза необходимо проводить трансплантацию печени на первом году жизни.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. ***Ирышкин О.Е.,*** *Ильинский И.М., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Этиология, патогенез и морфология билиарной атрезии // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 3. – С. 69–76.
2. ***Ирышкин О.Е.,*** *Ильинский И.М., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Клинико-морфологическая диагностика гипоплазии внутрипеченочных желчных

протоков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. XV. – № 2. – С. 56–64.

3. ***Ирышкин О.Е.,*** *Ильинский И.М., Цирульникова О.М.* Гипоплазия внутрипеченочных желчных протоков // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. XV. – № 2. – С. 135–141.
4. ***Ирышкин О.Е.,*** *Ильинский И.М., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Патоморфология билиарной атрезии у детей – реципиентов донорской печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2013. – Т. XV. – № 4. – С. 47–54.
5. ***Ирышкин О.Е.,*** *Ильинский И.М., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Патоморфология билиарной атрезии у детей-реципиентов донорской печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI, приложение. – С. 117.
6. ***Ирышкин О.Е.,*** *Ильинский И.М., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Патоморфологические особенности синдромальной и несиндромальной билиарной гипоплазии у детей-реципиентов донорской печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI, приложение. – С. 118.

Погребниченко Игорь Викторович

ЭФФЕКТИВНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕЧЕНИ МУЛЬТИОРГАННОГО ДОНОРА ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

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

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор **Мойсюк Ян Геннадиевич**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Выполненная T.E. Starzl в 1963 г. (Starzl T.E. et al., 1963) впервые в клинической практике ортотопическая трансплантация печени (ОТП) в последующем способствовала бурному развитию и достижению выдающихся успехов в хирургических и анестезиологических аспектах этого направления, в выборе показаний и противопоказаний, послеоперационного лечения реципиентов, а также в вопросах иммуносупрессии.

Сегодня трансплантация печени является единственным методом радикального лечения больных с терминальными стадиями заболеваний печени различного генеза. Ежегодно в мире выполняется более 25 тыс. ортотопических трансплантаций печени. Несмотря на это, потребность в этой операции, по данным UNOS, в 4 раза больше и составляет от 20 до 30 на 1 млн населения.

Пятилетняя выживаемость реципиентов после ОТП на сегодняшний день составляет 75–84% (Adam R., 2009; Готье С.В и соавт., 2012; Гра-

нов А.М. и соавт., 2012), это вносит достаточный оптимизм для дальнейшего более эффективного развития данной проблемы. Основой любой трансплантационной программы является решение вопросов посмертного донорства, что, в свою очередь, во многом определяет количество и результативность трансплантации в целом.

В России на один миллион жителей приходится в среднем 2,9 донора в год. За 2012 г. выполнено 1343 трансплантации различных органов. Трансплантаций печени – 243, из них от посмертных доноров – 139. Эти цифры говорят о критическом дефиците трансплантатов трупной печени. Очевидно, что столь низкие показатели не удовлетворяют существующим потребностям (Готье С.В. с соавт., 2011, 2012, 2013). Становится очевидным, что основной путь увеличения числа трансплантаций связан с расширением и интенсификацией деятельности донорских служб. В России отмечается положительная тенденция к расширению практики диагностики смерти головного мозга (СМ) у потенциальных доноров, что привело к увеличению доли доноров с СМ с 42% в 2006 г. до 71% в 2012 г. (Готье С.В. с соавт., 2013). Однако с ростом показаний к ОТП и ростом числа больных, включенных в лист ожидания, отмечается увеличение разрыва между наличием пригодных донорских органов, и количеством пациентов, нуждающихся в трансплантации.

В связи с повсеместным дефицитом донорских органов вопросы расширения донорского пула решаются по-разному: снимаются ограничения на использование так называемых «маргинальных» органов (Jordan M.L. et al., 1999; Francesco D., Amico et al., 2007; Резник О.Н., 2008; Feng S. et al., 2010), что могут себе позволить крупные трансплантационные центры с хорошо организованной донорской службой и большим объемом выполняемых операций (Malful D.G. et al., 2005; Мойсюк Я.Г. с соавт., 2010), используется сплит-трансплантация, позволяющая из одной целой печени получить два полноценных фрагмента (для взрослого и ребенка или 2 взрослых) (Rogiers X. et al., 2002), и наконец, трансплантация фрагмента печени от живого донора (Готье С.В. с соавт., 2008; Gruessner R.W.G., Benedetti E., 2008).

Успех трансплантации печени во многом зависит от качества донорского органа (Ransford R. et al., 2009; Гранов А.М. с соавт., 2012). Вопросы донорства вообще, и в частности донора печени, весьма многогранны. Так, остается окончательно не решенным вопрос оптимального и допустимого выбора донора, т. е. исходных критериев, которые гарантировали бы функциональную полноценность трансплантата (Feng S., 2006; Burroughs G.S. et al., 2009; Ballarin R. et al., 2010; Gambato M. et al., 2010; Magnus R.S. et al., 2010; Lai et al., 2011). С каждым годом с учетом роста органного дефицита многие критерии выбора донора печени пересматриваются, в мировой практике введено понятие донора печени с расширенными критериями (ДПРК) (Fukumori T. et al., 2003; Rull R. et al., 2003;

Gastaca M., 2009; Noujaim H.M. et al., 2009). Возраст, гемодинамическая стабильность донора, время нахождения в реанимации, инфицирование донора, гипернатриемия, групповая несовместимость, стеатоз и даже орган, полученный от донора с «небьющимся сердцем» становятся относительными противопоказаниями для использования органа в качестве трансплантата. В то же время не установлено четкого определения «расширенных критериев», не определены допустимые границы этого расширения.

Пока не найдено абсолютного прогностического фактора или комплекса предикторов, позволяющих прогнозировать послеоперационную функцию трансплантата. Вызывая определенные сомнения и противоречия, анализируются разнообразные параметры и донора, и реципиента.

Таким образом, основной причиной, сдерживающей рост количества ОТП, является дефицит донорских органов. Разработка системы организационных и медицинских мероприятий, адаптированных к отечественным условиям и направленных на сокращение этого дефицита, является актуальной проблемой.

Цель исследования: на основе научно-обоснованного комплексного подхода усовершенствовать качественно и количественно донорское обеспечение трансплантации печени путем интенсификации программы посмертного мультиорганного донорства, оптимизации отбора и кондиционирования доноров, допустимого расширения критериев пригодности донорской печени.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи исследования**:

1. Изучить донорский пул отдельного региона и определить реальные целевые показатели в контексте получения трансплантатов печени.
2. Оптимизировать хирургическую технику выполнения мультиорганной эксплантации абдоминальных органов.
3. Установить основные клинико-морфологические критерии определения пригодности донорской печени для трансплантации.
4. Определить клиническое значение ранней дисфункции трансплантата и оценить влияние донорских факторов на ее развитие.

Научная новизна исследования

Предложена эффективная модель региональной программы мультиорганного донорства, основанная на принципах трансплантационной координации, новых организационных и образовательных подходах на конкретном примере отдельного региона. Разработаны методические приемы мультиорганной эксплантации, обеспечивающие оптимальное качество донорских органов и максимальное их использование. Определены рациональные способы артериальной реконструкции в различных топографо-

анатомических условиях. Разработана система оценки донорской печени на различных этапах (до изъятия, во время операции эксплантации, на этапе перфузии). Продемонстрировано отрицательное влияние ранней дисфункции трансплантата на исходы трансплантации печени.

На основе анализа клинических результатов трансплантаций установлены допустимые пределы расширения границ дооперационных характеристик донора, позволяющие максимально эффективно использовать доступный донорский пул для трансплантации печени. Установлено, что изолированная оценка отдельно взятых факторов риска не имеет прогностического значения. Стеатоз донорской печени определен как основная детерминанта, определяющая возможность использования органа для трансплантации. Изучена корреляционная связь между ультразвуковой, визуальной и гистологической оценкой степени стеатоза донорской печени.

Практическая значимость исследования

Внедрена стандартизация обеспечения донорского этапа при трансплантации печени с увеличением числа эффективных доноров и улучшением качественных показателей. Разработаны практические рекомендации по организации службы органного донорства. Предложен алгоритм определения пригодности донорской печени для трансплантации, основанный на анализе клинического опыта одного из ведущих отечественных центров трансплантации печени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эффективно организованная на принципах трансплантационной координации, использования доноров после констатации смерти мозга и принятия обоснованных расширенных критериев донора печени региональная программа мультиорганного донорства может обеспечить до 10 трансплантаций печени на 1 млн населения региона в год.
2. До 60% эффективных доноров со смертью мозга пригодны для получения трансплантата печени с учетом обоснованных ограничений. Большинство из эффективных доноров печени (76%) являются донорами с расширенными критериями.
3. Разделение печени *in situ* для сплит-трансплантации, комбинированное изъятие печени и панкреатодуоденального комплекса, экстракорпоральная (*ex situ*) артериальная и венозная реконструкции позволяют максимально эффективно использовать доступный донорский пул для получения большего количества органов.
4. Ранняя обратимая дисфункция трансплантата печени развивается в два раза чаще при использовании донора с расширенными критери-

ями, но риск первично не функционирующего трансплантата определяется в равной степени как донорскими, так и реципиентскими факторами. Ни один из факторов донора с установленными ограничениями в отдельности не оказывает самостоятельного влияния на исходы трансплантации, но их сочетания следует избегать.

5. Частота ранней дисфункции и неблагоприятных исходов трансплантации печени при использовании доноров с расширенными критериями достоверно уменьшается при сроке холодовой ишемии менее 6 ч.
6. Селективное использование печени с допустимой степенью стеатоза до 50%, установленной по разработанному алгоритму, возможно в определенных обстоятельствах, при отсутствии прочих факторов риска, коротком периоде ишемии, тщательно подобранном реципиенте и спланированной операции.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования, анализе и обобщении полученных результатов. Под непосредственным руководством автора и при его непосредственном участии осуществлялось развитие программы мультиорганного донорства на территориях взаимодействия в МО, выполнены процедуры кондиционирования и оценки пригодности доноров. Лично автором выполнено подавляющее большинство операций эксплантации печени и других абдоминальных органов.

Реализация результатов исследования

Результаты диссертационного исследования используются в практической деятельности отдела клинической трансплантологии ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России, в донорских и трансплантационных центрах городов Уфы, Екатеринбурга, Казани, Воронежа и Московской области.

Материалы диссертации используются в учебно-педагогическом процессе на кафедре трансплантологии и искусственных органов ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации доложены: на конференции «Новые технологии в диагностике, интервенционной медицине и хирургии печени и поджелудочной железы», 8–10 июня, г. Санкт-Петербург, 2005; на городской научно-практической конференции «Органное донорство», Москва, 2006; на IX международном конгрессе «Донорство органов и тканей», Филадельфия, США, ноябрь 2007; на научной конференции

«Актуальные вопросы трансплантации печени и органного донорства», г. Санкт-Петербург, 2007; на IV Всероссийском съезде трансплантологов, 9–10 ноября, Москва, 2008; на конференции «Трансплантация печени в России: 20 лет спустя», 14 февраля, Москва, 2010; на III Международной научно-практической конференции «Высокие технологии в медицине», 21–23 мая, Нижний Новгород, 2010; на конференции «Медицина: достижения нового века», 26–28 июня, Коста Брава, Испания, 2012; на VI Всероссийском съезде трансплантологов, 24–27 сентября, Москва, 2012.

Апробация диссертации состоялась 26 декабря 2013 года на совместном заседании клинических и научных подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 38 работ, из которых 21 статья, 15 опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 143 страницах и состоит из введения, шести глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, который включает 389 источников, из них отечественных авторов – 64. Работа содержит 12 таблиц и 71 рисунок.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с января 2008-го по декабрь 2012 г. осуществлено 358 выездов в стационары Московской области в связи с наличием возможного донора. При этом у 153 (42,7%) потенциальных доноров изъят хотя бы один орган, т. е. они стали эффективными донорами. Этот материал послужил для формирования методологии и анализа результатов развития региональной программы мультиорганного донорства.

За период исследования с 2004-го по декабрь 2012 г. нами изучены 212 эффективных доноров в контексте получения трансплантатов печени. У всех была констатирована СМ. Из них мужчин было 174 (82,1%), женщин – 38 (17,9%). Возраст колебался от 18 до 71 года (39 ± 13, M ± SD). В 139 (65,6%) случаях произведено изъятие печени с последующей трансплантацией (1-я группа доноров). Среди 139 использованных доноров печени мужчин было 115, женщин – 24. Возраст доноров колебался от 18 лет до 71 года (37,7 ± 13,7, M ± SD). Причиной смерти доноров в

81 случае явилась черепно-мозговая травма (ЧМТ), что составило 58,3%, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) различного генеза – 55 (39,6%), опухоль головного мозга в одном случае и в 2 случаях – вторичное (гипоксическое) повреждение головного мозга.

В 73 (34,4%) случаях от изъятия печени у потенциальных доноров мы отказались (2-я группа доноров). Из них мужчин было 59 (80,8%), женщин – 14 (19,2%). Возраст колебался от 19 до 67 лет (42,4 ± 12,1, M ± SD). Причиной смерти этой категории доноров являлись тяжелая ЧМТ – 53 случая (72,6%), ОНМК – 19 (26,0%), опухоль головного мозга – 1 (1,4%).

Все полученные трансплантаты печени были пересажены 133 реципиентам (из них у 6 выполнены ретрансплантации) в отделении трансплантации печени и почки ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова (ФНЦ). Для пяти реципиентов (3,8%) были использованы фрагменты трансплантатов печени (расширенная правая доля), полученные в результате разделения печени для сплит-трансплантации. Возраст реципиентов колебался от 12 лет до 71 года (41,8 ± 12,9, M ± SD). Из них мужчин было 58 (43,6%), женщин – 75 (56,4%). Показаниями к ОТП явились различные заболевания печени в терминальной стадии: первичный билиарный цирроз – 24 (18%), гепатит В – 14 (11%), гепатит С – 33 (25%), аутоиммунный гепатит – 19 (14%), алкогольный цирроз – 16 (12%), гепатоцеллюлярный рак – 6 (5%), первичносклерозирующий холангит – 7 (5%), а также другие редко встречающиеся заболевания – 14 (11%). Из них: синдром (болезнь) Бадда–Киари – 3 (2,26%), болезнь Вильсона–Коновалова – 3 (2,26%), врожденный фиброз – 2 (1,5%), гамартома печени – 1 (0,75%), идиопатическая оксалурия – 1 (0,75%), муковисцидоз – 1 (0,75%), нейроэндокринная опухоль – 1 (0,75%), поликистоз печени – 2 (1,5%).

Работа с донором в условиях реанимационного отделения состояла из нескольких этапов: 1) оценка потенциального донора при первичном осмотре; 2) интенсивная терапия и мониторинг (кондиционирование); 3) дополнительные исследования; 4) повторная органоспецифическая оценка; 5) принятие решения об изъятии конкретных органов; 6) хирургическое вмешательство – эксплантация.

При первичном осмотре и перед изъятием органов производили исследование показателей клинического анализа крови, биохимических показателей – общий билирубин, АСТ, АЛТ, мочевина, креатинин – на аппарате Reflotron Plus «Roche Diagnostics» (Швейцария). Газовый состав артериальной и венозной крови и электролиты в артериальной крови определяли не реже одного раза в час аппаратом ABL-77 фирмы «Radiometer Copenhagen» (Дания). Производили обследование крови донора на инфекции (HBV, HCV, ВИЧ, сифилис) методом иммунохромотографического выявления антител и антигенов с помощью экспресс-тест систем (ООО «ФАКТОР-МЕД», Россия) с последующим подтверждением

результатов в сертифицированной лаборатории. Для непрерывной регистрации артериального давления катетеризировали лучевую артерию, центральную вену – для контроля центрального венозного давления и проведения адекватной инфузионной терапии. Осуществляли непрерывный контроль ЭКГ, пульса, артериального давления, температуры тела (портативными мониторами «Philips» IntellVue MP5, Германия, или монитором с дефибриллятором «ZOLL» M-series, США), почасового диуреза.

Интенсивная терапия и мониторинг включали наблюдение и коррекцию центральной гемодинамики, ритма сердца, насыщения артериальной крови кислородом, темпа диуреза, показателей КЩС, водно-электролитного баланса. Инотропную поддержку осуществляли с помощью шприцевого насоса – перфузора («B/Braun» Perfusior compact S, Германия) для точного расчета дозировки препаратов: допамин, добутамин, адреналин, норадреналин.

Коррекцию водно-электролитного баланса осуществляли введением необходимого объема растворов, не содержащих ионы Na^+, для предотвращения или усугубления гипернатриемии (калия-магния аспаргинат, 5% раствор глюкозы), достигая целевых показателей ЦВД под контролем диуреза. Заместительную гормональную терапию осуществляли болюсным введением метилпреднизолона (15 мг/кг). Мониторировали уровень глюкозы крови (4,4–8,3 ммоль/л) и при необходимости корригировали введением инсулина. При признаках анемии (показателях гематокрита 25–28 и снижении гемоглобина ниже 70–80 г/л) с целью ее коррекции производили введение 1–2 доз эритроцитарной взвеси. Температуру нормализовали с помощью термоодеяла «Warm Touch» фирмы Nellcor (США), грелок и инфузии подогретых растворов.

Ультразвуковое исследование. С целью дополнительной и органоспецифической диагностики выполняли ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости при помощи портативного ультразвукового сканера Vivid Q, «General Electric» (США). Задачами этого исследования являлись определение размеров печени, состояния ее структуры и эхогенности, выявление признаков портальной гипертензии, оценки состояния поджелудочной железы и почек, исключение патологических скоплений и образований в брюшной полости. В ходе исследования производили измерение стандартных линейных размеров печени, особое внимание уделяли эхогенности ткани печени в оттенках серой шкалы, в обязательном порядке проводили ее сравнение с интенсивностью эхогенности правой почки на одинаковой глубине сканирования.

Определение доноров с расширенными критериями. В качестве критериев «оптимального» или «стандартного» донора печени на момент принятия решения об эксплантации были приняты следующие: возраст < 50 лет; искусственная вентиляция легких (ИВЛ) < 5 сут; отсутствие периодов асистолии или гипотензии < 80/60 мм рт. ст. более двух часов;

инотропная поддержка допамином < 10 мкг/кг/мин; вазопрессорная поддержка норадреналиом < 500 нг/кг/мин; отсутствие необходимости использования 2 вазопрессоров; нормальные показатели билирубина, АСТ, АЛТ; нормальная эхогенность печени по данным УЗИ; значение натрия плазмы < 155 ммоль/л.

Доноры, не удовлетворяющие хотя бы одному из критериев, рассматривались как доноры печени с расширенными критериями (ДПРК)

Морфологическая оценка донорской печени. Протокольно производили эксцизионную биопсию печени донора до перфузии для ретроспективной оценки характера и степени стеатоза. В сомнительных случаях производили срочное гистологическое исследование, результаты которого учитывались при принятии окончательного решения о пригодности печени донора для трансплантации.

Для срочной диагностики биоптатов применяли экспресс-метод исследования. Гистологические препараты получали из биоптатов методом замораживания на криостате LEICA CM 1850 UV, окрашивали Суданом (III, IV). Исследование проводили на микроскопе LEICA DMLA. Степень макровезикулярного жирового гепатоза оценивалась по трехбалльной шкале (до 30% – легкая, свыше 30 до 50% – умеренная и более 50% – тяжелая).

Эксплантацию донорской печени производили по модифицированным методикам с использованием перфузии через аорту раствором «Кустодиол» в объеме 10–15 л и удалением перфузата через дренирующую канюлю нижней полой вены.

Определение ранней дисфункции трансплантата (РДТ) и первично не функционирующего трансплантата (ПНФТ). Определение ранней дисфункции трансплантата проводили по критериям, предложенным Otthoff и соавт. в 2010 г.:

1. Уровень билирубина > 170 мкмоль/л на 7-й послеоперационный день.
2. Международное нормализованное отношение (МНО) > 1,6 на 7-й послеоперационный день.
3. Максимальное значение аминотрансфераз (АСТ, АЛТ) > 2000 МЕ/мл в течение первых 7 послеоперационных дней.

ПНФТ определяли как трансплантат с тяжелой (необратимой) степенью РДТ, утраченный (ретрансплантация или смерть пациента) в раннем послеоперационном периоде (до 30 дней) по причинам, не связанным с хирургическими осложнениями (тромбозы, билиарные осложнения, кровотечения и др.) или острым отторжением.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) и SPSS 8.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Для описания количественных признаков, имеющих нормальное распределение, использовали среднее арифметическое и стандартное отклонение. Для описания количественных признаков, распределение которых отличалось от нормального, использовали медиану, нижний и верхний квартили. Каждый признак проверяли на нормальность распределения. Для сравнения количественных признаков, распределенных нормально, пользовались двусторонним t-критерием Стьюдента, во всех остальных случаях пользовались непараметрическим критерием Mann–Whitney; качественные номинальные признаки сравнивали критерием χ^2. Выживаемость оценивалась методом Каплана–Майера с применением log-rank-теста и при помощи регрессионной модели Кокса с пропорциональными рисками, величина относительного риска приведена с указанием 95% доверительного интервала. Для выявления факторов риска развития РДТ применяли метод отношения шансов. Для оценки надежности диагностических тестов рассчитывали чувствительность, специфичность, прогностичность отрицательного результата, прогностичность положительного результата и диагностическое отношение шансов с указанием 95% доверительного интервала для каждого из параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка методологических подходов и результаты программы мультиорганного донорства в Московской области (МО)

В соответствии с решением Координационного совета для проведения работы по органному донорству в МО за отделением координации органного донорства (ОКОД) ФНЦ были закреплены определенные центральные районные или городские больницы с соответствующими районами обслуживания населения – 14 больниц (1693 тыс. населения), обозначенные как «донорские стационары». В период с января 2008-го по декабрь 2012 г. осуществлено 357 выездов в стационары МО в связи с наличием возможного донора. При этом у 153 (**42,7%**) потенциальных доноров изъят хотя бы один орган, т. е. они **стали эффективными донорами**. В 204 (57,3%) случаях от использования донора пришлось отказаться по различным причинам (рис. 1). Среди причин отказа от использования возможного донора наибольшую долю (36,1%) составило выявление маркеров гепатитов С и В, сифилиса и ВИЧ. Причем из них в 51,4% случаев отказ от использования донора был обусловлен наличием маркеров гепатита С.

Проводимая образовательная и организационная работа на базах ФНЦ в МО в сочетании с регулярным аудитом смертности в закрепленных стационарах привели к началу осуществления эксплантаций в тех стационарах, где донорство ранее не осуществлялось вообще, возобновлению его

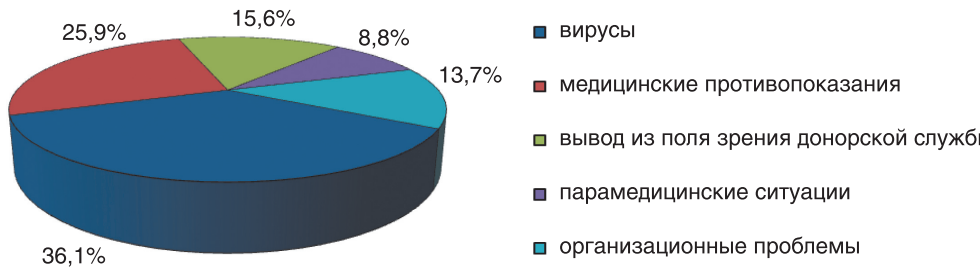


Рис. 1. **Причины отказов от использования возможных доноров**

в тех стационарах, где оно было раньше, но прекратилось несколько лет назад; к постепенному увеличению общего числа случаев изъятий донорских органов в МО, и что очень важно, к выполнению мультиорганных эксплантаций у доноров с установленным диагнозом СМ.

В результате отмечен рост количества эффективных доноров, полученных ОКОД ФНЦ из стационаров МО с двух в 2007 г. до 34 в 2011 г. Также с 2008 г. в стационарах МО, закрепленных за ФНЦ, впервые стали выполняться диагностика смерти головного мозга и мультиорганная эксплантация. Диагноз СМ в 2008 г. был установлен в 3 случаях, что составило 30% от общего количества эффективных доноров. В 2009 г. процент изъятий при установленном диагнозе СМ составил 69%, а в 2010 – 84%. Мультиорганные эксплантации в 2008 г. выполнены в 25% случаев, в 2009 г. – в 56% случаев и в 2010 г. – 72%. Количество органов, полученных от одного донора, в связи с началом мультиорганных эксплантаций увеличилось с 2,2 в 2008 г. до 2,7 в 2009 г. В 2010 г. этот показатель достиг максимального значения и составил 3,3 (табл. 1).

Таблица 1

Число доноров на 1 млн населения и органов, полученных от одного донора

	2009	2010	2011	2012
Доноров на 1 млн	7,5	20	21,9	19
Органов от 1 донора	2,7	3,3	3,2	3,0

Показатели 2012 г. демонстрируют стабилизацию уровня посмертного донорства (рис. 2) и соотношения доноров с диагнозом СМ и мультиорганных доноров (МОД), оно составило 87,7 и 76,7% соответственно (табл. 2).

Стабилизация уровня донорства не говорит о полном использовании донорского ресурса, а лишь об ограничении доступности его использования, что доказывает необходимость поиска новых путей и системных решений проблемы на административном и законодательном уровнях.

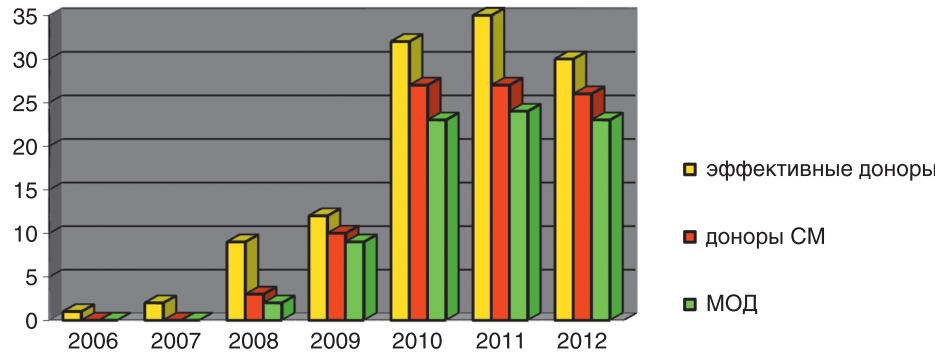


Рис. 2. **Динамика эксплантаций в МО на территории ФНЦ**

Таблица 2

Доля доноров с диагнозом СМ и мультиорганных эксплантаций в % от общего числа эффективных доноров

	2009	2010	2011	2012
Доноры с диагнозом СМ	83,3	84,4	71,1	87,7
Мультиорганные эксплантации	75	71,9	68,6	76,7

Динамика эксплантаций донорской печени ОКОД ФНЦ также демонстрирует изменение структуры источников ее получения. В последние годы проблему организации трансплантации печени от посмертных доноров ФНЦ решает преимущественно за счет донорских баз в МО, которые вносят стабильную и значимую долю в число выполняемых трансплантаций (рис. 3). При этом не отмечается тенденции к снижению числа трупных трансплантаций печени.

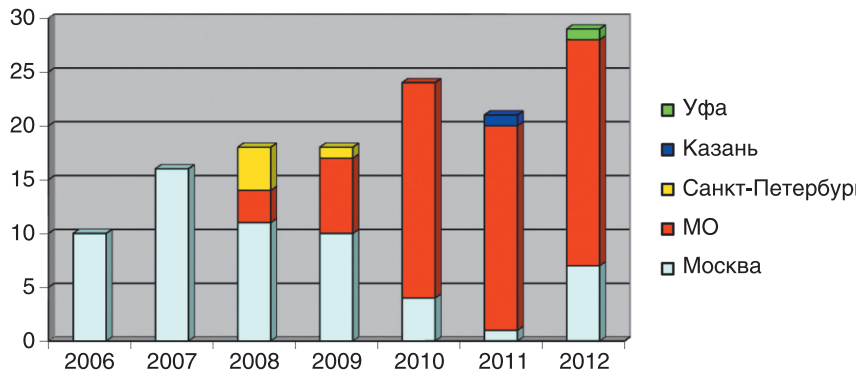


Рис. 3. **Источники получения трансплантатов печени**

Инициация и развитие программы МОД в Московской области в период с 2008-го по 2012 г. включительно позволили осуществить 457 трансплантаций различных органов, из них: трансплантаций сердца – 72, печени – 68, почек – 298, интенсифицировать трансплантации поджелудочной железы (ПЖ) – 16 операций – и начать осуществление трансплантации сердечно-легочного комплекса (СЛК) – 3 (рис. 4).

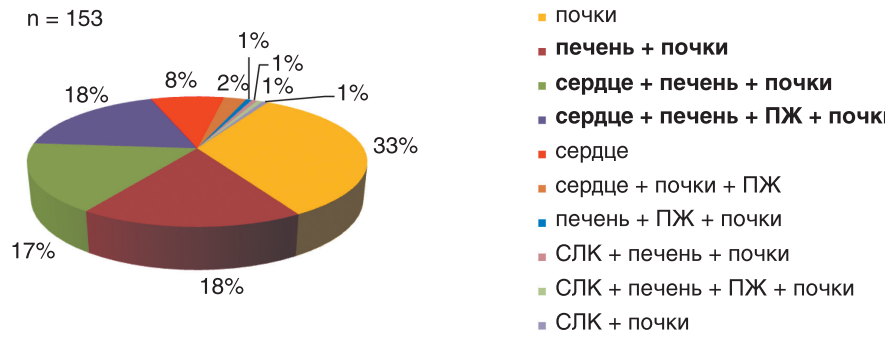


Рис. 4. **Комбинации органов при мультиорганной эксплантации**

Таким образом, в период, охватываемый настоящим исследованием, на территории деятельности ОКОД ФНЦ в Московской области в среднем уровень посмертного донорства достиг 20 доноров на 1 млн населения в год, а число органов, полученных от одного донора – более трех, что приближается к соответствующим показателям ряда Европейских стран и существенно превышает общероссийские показатели. Это позволяет рекомендовать достигнутые показатели как целевые для действующих и создающихся донорских программ в РФ. Распространение практики МОД на всю территорию МО приведет к трехкратному увеличению уровня посмертного донорства в регионе.

Комплексная оценка донорской печени

В этой части исследования проведено ретроспективное сравнение донорских органов, которые были пересажены – «использованные» (139), и тех, которые на различных этапах оценки были признаны не пригодными для трансплантации – «неиспользованные» (73).

Органоспецифическая оценка донорской печени и принятие решения о возможности или невозможности ее использования для трансплантации осуществлялись на различных этапах на основании алгоритма, разработанного нами в ходе исследования:

Алгоритм комплексной поэтапной оценки печени донора

I. До изъятия

1. Анамнез, осмотр, оценка гемодинамики и лабораторных данных.
2. Данные ультразвукового исследования – оценка эхогенности печени.
3. Биохимические показатели (билирубин, печеночные ферменты, электролиты – Na^+) и их динамика в процессе кондиционирования.

II. Во время эксплантации

1. Визуальная оценка (цвет, эластичность, наличие отека, состояние других органов брюшной полости).
2. Биопсия печени до перфузии для ретроспективной оценки по протоколу. В сомнительных случаях срочное исследование.

III. На этапе перфузии

1. Оценка по результатам холодовой перфузии (изменение цвета, равномерность окрашивания, плотность после полного отмывания от крови).

Сравнительная клинико-лабораторная характеристика использованных и неиспользованных доноров. Значимых различий по возрасту в анализируемых группах не было. Однако изменения в распределении доноров по возрасту за период исследования показывают, что в начале программы рассматривались преимущественно потенциальные доноры молодого возраста, а с набором опыта в последние годы стали преобладать доноры старше 50 лет.

Достоверных различий в причинах смерти при сравнении групп использованных и неиспользованных доноров не выявлено. По характеру вазопрессорной поддержки и дозировке вазопрессоров значимых различий между группами не было. Также не отмечено различий между исследуемыми группами по длительности ИВЛ и гемодинамике.

Статистически достоверно в группе неиспользованных доноров отмечается большая доля доноров с уровнем натрия более 170 ммоль/л. У этих доноров именно уровень натрия стал основной причиной отказа от использования печени донора. Однако снижение натрия в процессе кондиционирования служило поводом для выполнения лапаротомии и визуальной оценки трансплантата.

С другой стороны, для трансплантации печень была изъята у 12 доноров с уровнем натрия выше 170. В одном из этих наблюдений был получен ПНФТ от донора с уровнем Na^+ – 200 ммоль/л. У остальных 11 доноров уровень натрия не превышал 180 ммоль/л и только в трех наблюдениях имела место обратимая РДТ. Это позволяет нам говорить о возможности в исключительных случаях при отсутствии других факторов риска использовать такие трансплантаты. Таким образом, группы использованных и

неиспользованных доноров оказались вполне сопоставимыми по исходным клинико-лабораторным параметрам на первом этапе оценки, за исключением уровня натрия (табл. 3).

Таблица 3

Параметры групп доноров на первом этапе оценки

Параметр	Использованные доноры, % (n = 139)	Неиспользованные доноры, % (n = 73)	p (хи-квадрат)
Возраст > 50 лет	20,3	31,0	0,1706
Нахождение в ОРИТ > 120 ч	7,9	15,7	0,0829
АСТ > 40	52,9	65,4	0,1285
АЛТ > 40	36,9	56,6	0,0154
Общий билирубин > 20	17,6	24,5	0,2804
Допамин > 10 мкг/кг/мин	25,0	33,8	0,1832
Na^+ > 170 мкмоль/л	**8,6**	**23,2**	0,0075

Причины отказа от трансплантации. По результатам оценки донора до лапаротомии в 32 случаях (43,8%) наблюдений было принято решение об отказе от эксплантации и трансплантации печени. Причинами отказа до лапаротомии являлись: наличие четко установленного алкоголизма в анамнезе – 10 (31,3%), данные УЗИ – 23 (71,9%), нестабильная гемодинамика и превышение доз вазопрессоров – 24 (75,0%), выраженная гипернатриемия более 170 ммоль/л – 14 (43,8%). Наиболее часто отмечалось сочетание двух или трех факторов риска, исключающих изъятие печени.

Диагностическая ценность ультразвуковой, визуальной и комплексной оценки степени стеатоза. Как отмечалось выше, основной причиной отказа от изъятия донорской печени для трансплантации еще до лапаротомии была ее оценка как непригодной вследствие выраженного/предельного стеатоза (более 50%), предполагаемого по данным УЗИ, выполненного специально подготовленным специалистом-экспертом из центра трансплантации.

При оценке данных ультразвукового исследования выделили 3 степени эхогенности печени. Одинаковая или сопоставимая эхогенность печени с эхогенностью почки (А) расценивалась как нормальная и предполагала стеатоз от 0 до 30%. При заметном расхождении – умеренно повышенная (Б) – предполагаемый стеатоз оценивался около 50%. Это требовало необходимости дополнительной визуальной оценки, в том числе и на этапе холодовой перфузии. При значительном повышении эхогенности печени (В) – «белая печень» – предполагали наличие макровезикулярного стеатоза свыше 50–100%, что чаще всего и являлось причиной отказа от эксплантации до лапаротомии. В этой ситуации визуальная оценка имеет

смысл лишь при отсутствии других факторов риска и наличии ургентного реципиента. При этом обязательна и морфологическая оценка степени стеатоза по результатам срочной биопсии.

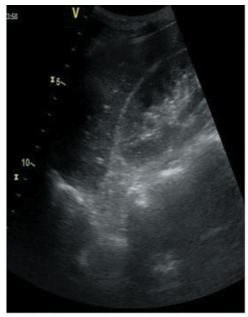
Во всех 23 случаях отказа от изъятия печени на основании данных УЗИ при последующем изъятии почек печень донора была признана не пригодной для использования по визуальной оценке и ретроспективным данным гистологических исследований.

По данным визуальной оценки было 38 отказов (52,1%). В этих случаях имелось выраженное патологическое изменение окраски печени, неравномерность ее окраски, в том числе и после перфузии, выраженный отек и уплотнение, закругленные края, наличие других патологических изменений в брюшной полости. Так, в трех случаях отказа от изъятия абдоминального комплекса причиной отказа в 2 случаях явился геморрагический панкреонекроз и в одном – онкологический процесс в брюшной полости. В 3 случаях, что составило 4% от всех отказов, имело место расхождение удовлетворительных данных первичной оценки параметров донора и данных ультразвуковой оценки печени с данными визуальной оценки, причем визуальная оценка не позволяла уверенно оценить превышение порогового значения стеатоза (>50%). Во всех трех случаях при срочном гистологическом исследовании степень макровезикулярного (крупнокапельного) стеатоза оказалась существенно выше 50%, что послужило причиной отказа от использования изъятых органов. Однако в большинстве случаев данные ультразвуковой и визуальной оценки совпадали и коррелировали с данными ретроспективного гистологического исследования.

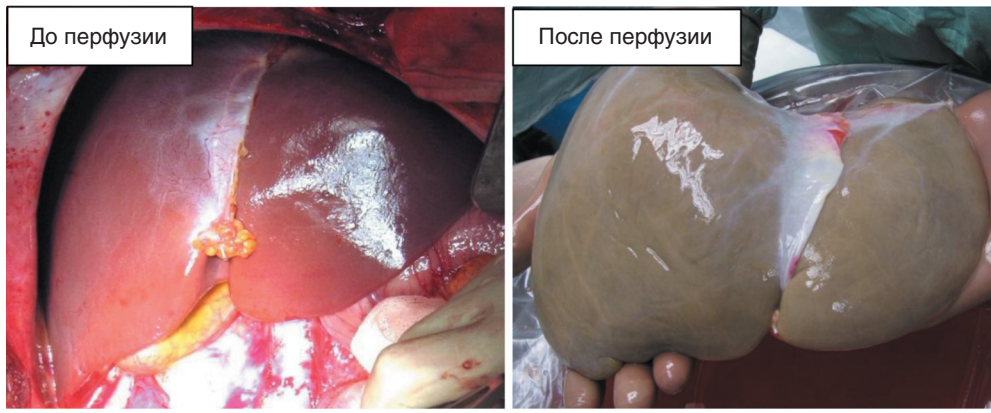
Сопоставление результатов визуальной и морфологической оценки крайне важно для накопления практического опыта хирургов, выполняющих эксплантацию донорской печени.

Печень, без сомнения пригодная для трансплантации (трансплантат хорошего качества), при визуальной оценке имеет равномерно темно-вишневый оттенок, ровную, блестящую капсулу. Обе доли имеют острый край (отсутствие отека), при пальпации мягко-эластичную консистенцию. Проведение по ее поверхности пальцем или легкое надавливание не оставляет желтоватого следа или вдавлений. Срез печени при взятии эксцизионной биопсии – светло-коричневого оттенка. После проведения холодовой перфузии трансплантат приобретает бледно-бежевый со слабо выраженным коричневатым оттенком цвет (цвет «крем-брюле»), мягко-эластичной консистенции, обе доли имеют острый край. Поверхность ровная, блестящая (рис. 5).

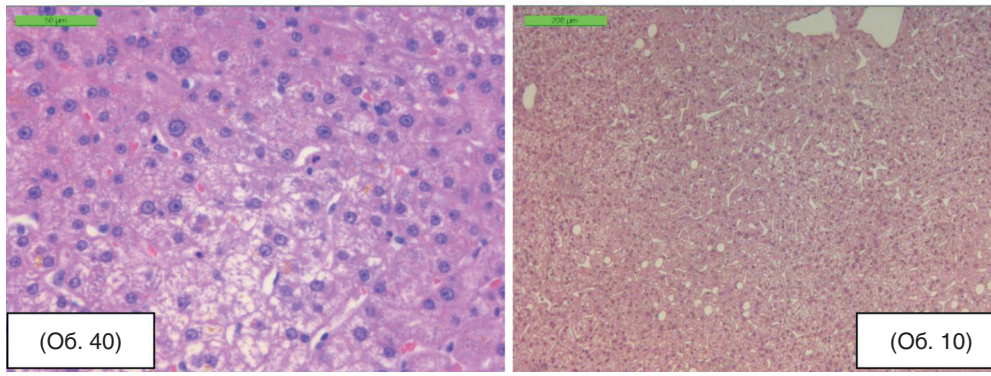
Печень, пригодная для трансплантации (удовлетворительного качества), имеет темно-розоватый оттенок, консистенция мягко-эластичная или несколько уплотнена. Обе доли имеют острый край. Может отмечаться умеренный отек, выражающийся в округлости краев. После проведения противоотечной терапии в процессе подготовки к канюляции и мобилизации края печени заостряются, консистенция становится мягче.



Эхогенность паранхимы печени и почки на одной глубине сканирования – **одинаковая или сравнимая**.
Предполагаемая степень стеатоза 0–30%



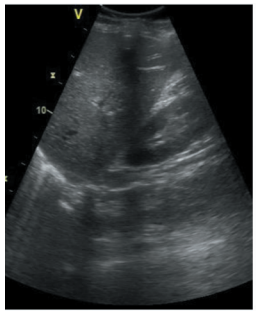
Ретроспективный гистологический контроль
(Окраска гематоксилином и эозином)



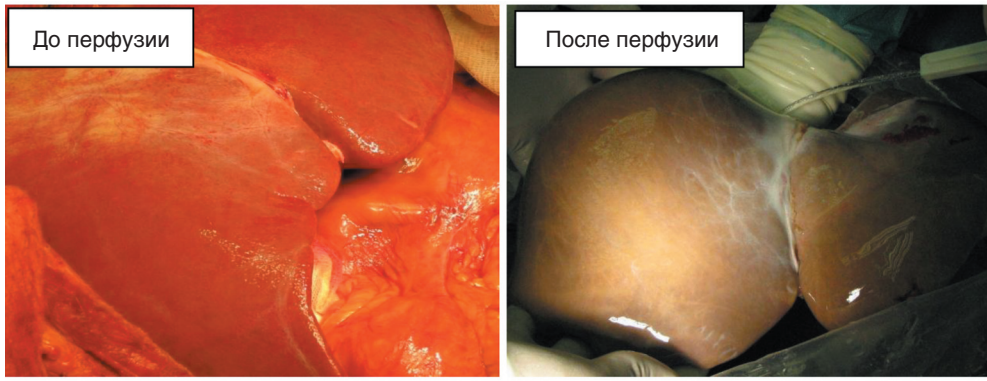
А – стеатоз отсутствует Б – стеатоз до 15%

Рис. 5. **Трансплантат хорошего качества**

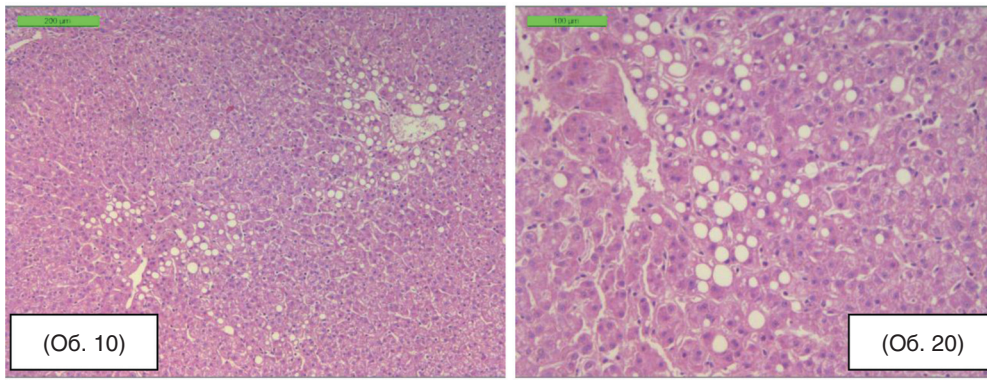
При надавливании пальцем остается слегка желтоватый след. Срез коричнево-желтого оттенка. После перфузии консервирующим раствором трансплантат печени приобретает бежевый цвет с легким желтоватым оттенком, мягко-эластичной консистенции, обе доли имеют острый край (рис. 6).



Эхогенность паранхимы печени и почки на одной глубине сканирования – эхогенность печени **повышена**.
Предполагаемая степень стеатоза до 50%



Ретроспективный гистологический контроль
(Окраска гематоксилином и эозином)



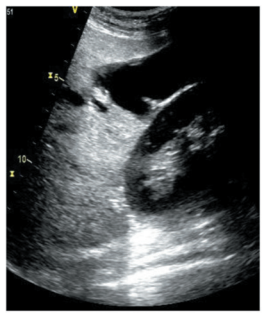
Один препарат на различном увеличении. Стеатоз 30–50%

Рис. 6. **Трансплантат удовлетворительного качества**

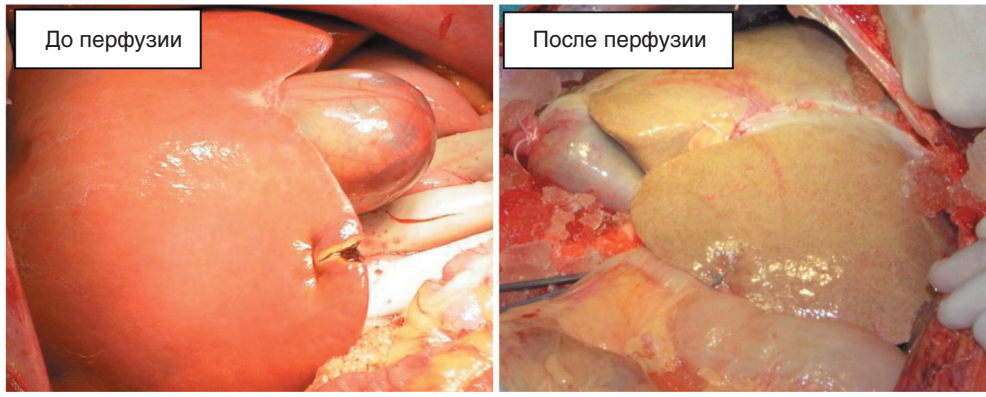
Не пригодная для трансплантации печень имеет отчетливо розовый или желтый с розоватым оттенком цвет, однако край обеих долей может быть как острый, так и закругленный, особенно правой доли. Консистенция – от плотной до «каменной». При надавливании пальцем остается отчетливый желтоватый след, также может оставаться сохраняющееся некоторое время вдавление. На срезе (при взятии биопсии) желтого цвета.

После перфузии печень приобретает бледно-бежевый с желтым оттенком или отчетливо желтый цвет, может отмечаться неоднородность окраски с крапчатостью («свиная кожа») (рис. 7). Консистенция после перфузии остается плотной.

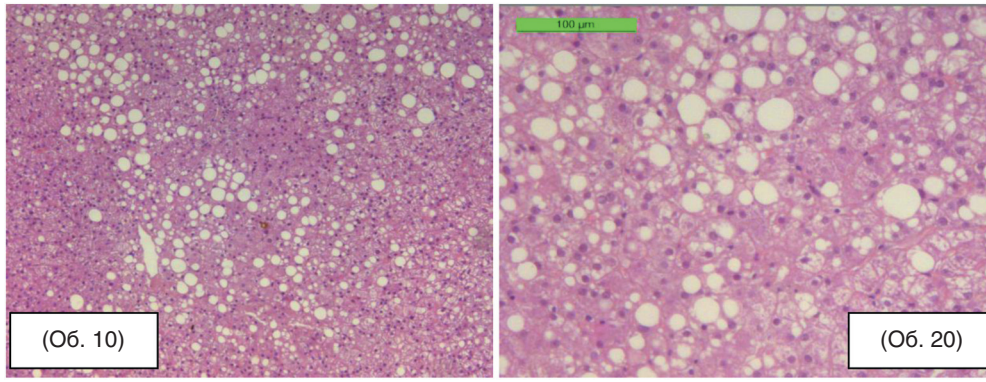
Трансплантат, изображенный на рис. 8, с крупнокапельным стеатозом 100% попал в группу «использованных». Трансплантат был передан из



Эхогенность паранхимы печени и почки на одной глубине сканирования – эхогенность печени **значительно повышена, «белая печень»**.
Предполагаемая степень стеатоза более 50%

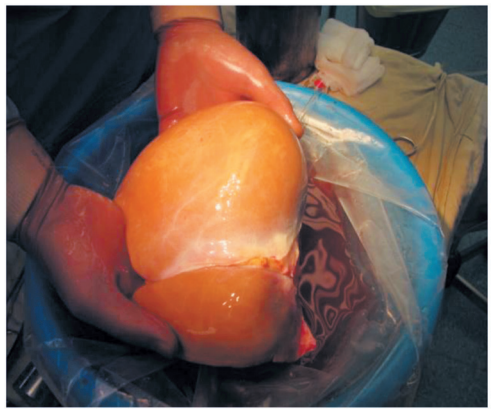


Ретроспективный гистологический контроль
(Окраска гематоксилином и эозином)



Один препарат на различном увеличении. Стеатоз 50–70%

Рис. 7. **Донорская печень, не пригодная для трансплантации**



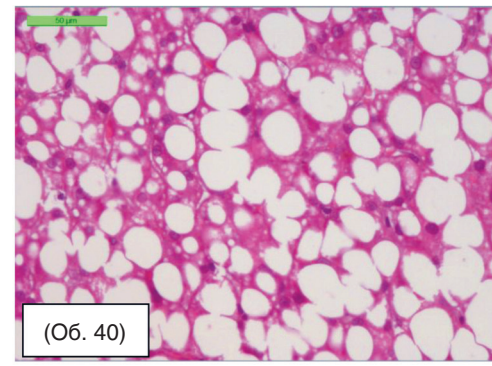


Рис. 8. **Донорская печень. Макровезикулярный стеатоз 100%. Ретроспективный гистологический контроль (окраска гематоксилином и эозином)**

другого учреждения для выполнения ургентной ретрансплантации. При этом оценка донора и визуальная оценка производилась донорской бригадой другого центра – трансплантат получил хорошую оценку и был признан пригодным. Мы смогли оценить визуальную картину лишь при экстракорпоральной подготовке трансплантата, когда гепатэктомия у реципиента уже состоялась. Результат выполненной ретрансплантации – ПНФТ с летальным исходом.

Клинико-морфологические корреляции. В группе несостоявшихся доноров печени по тяжести структурных изменений в препаратах печени доноров превалировали выраженная крупнокапельная жировая дистрофия (50–100% площади паренхимы), крупные очаги некроза гепатоцитов, активный гепатит (низкой и умеренной степени выраженности по классификаци Knodell), часто в сочетании с фиброзом. Напротив, в группе выполненных пересадок степень макровезикулярного стеатоза не превышала 50% (за исключением одного наблюдения, описанного выше), отмечались признаки белковой дистрофии различной степени выраженности, в портальных треугольниках незначительная лимфоидно-клеточная инфильтрация, количество и объем некрозов гепатоцитов соответствовали средней и среднетяжелой степени ишемических повреждений. При сравнении степени стеатоза в группах использованной и неиспользованной печени донора были получены достоверные различия, $p < 0{,}001$ (рис. 9).

Для определения значимости и информативности ультразвуковой и визуальной оценки отдельно и в комплексе был проведен статистической анализ доступных данных в группах использованных и неиспользованных доноров. Результаты ультразвуковой и клинической оценки сопоставлялись с данными ретроспективного гистологического исследования.

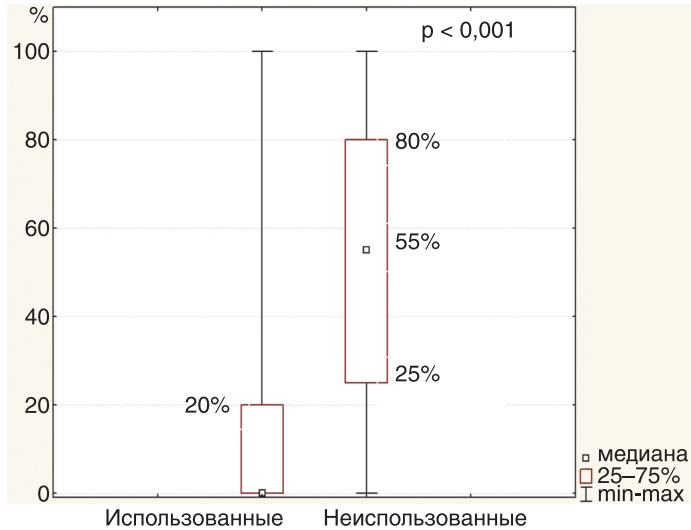


Рис. 9. **Стеатоз в группах использованных и неиспользованных донорских органов**

В качестве порогового значения был выбран уровень макровезикулярного стеатоза ≥ 50% (табл. 4).

Таким образом, было установлено, что комплексная экспертная оценка печени потенциального донора, включающая ультразвуковую и визуальную оценку, коррелирует с данными ретроспективного гистологического исследования с наиболее высокой степенью точности (чувствительность – 83,3%, специфичность – 97,5%) и позволяет надежно отказаться от использования трансплантатов с выраженным макровезикулярным стеатозом (более 50%) без срочного гистологического исследования биоптата донорской печени в большинстве случаев.

Ранняя дисфункция трансплантата и исходы трансплантации. В раннем послеоперационном периоде (до 42 дней после трансплантации) умерло 12 больных (9,0%), из них 5 в связи с наличием ПНФТ и 3 после ретрансплантации по поводу ПНФТ. В одном случае ретрансплантации также имел место ПНФТ, в двух других смерть наступила в результате прогрессирования сепсиса на фоне удовлетворительной начальной функции второго трансплантата. Это было связано с поздним выполнением ретрансплантации, на 20-е и 21-е сут. Частота ПНФТ составила 6,5% (9 из 139 трансплантатов). Таким образом, в структуре причин послеоперационной летальности ПНФТ занимает основное место – 66,7%. У 4 остальных умерших больных также имела место РДТ, а причинами смерти стали кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода, острое нарушение мозгового кровообращения, респираторный дистресс-синдром взрослых и молниеносный сепсис. В отдаленном периоде в сроки от

Таблица 4

Сопоставление информативности ультразвуковой, визуальной и комплексной (УЗИ и визуальной) оценки с данными гистологических исследований

Параметр оценки теста	УЗИ (стеатоз ≥ 50%) n = 82		Визуальная оценка (стеатоз ≥ 50%) n = 55		УЗИ и визуальная оценка (стеатоз ≥ 50%) n = 46	
	Значение	95% ДИ	Значение	43,7–97,0%	Значение	95% ДИ
Чувствительность	57,7%	39,0–74,5%	80,0%	87,1–99,6%	**83,3%**	43,7–97,0%
Специфичность	96,4%	87,9–99,0%	88,9%	4,657–238,572	**97,5%**	87,1–99,6%
Отношение правдоподобия для положительного результата	16,154	3,983–65,518	7,200	0,029–1,024	33,333	4,657–238,572
Отношение правдоподобия для отрицательного результата	0,439	0,279–0,689	0,225	10,475–3630,000	0,171	0,029–1,024
Диагностическое отношение шансов	36,818	7,348–184,486	32,0	5,3–194,9	195,000	10,475–3630,000

3 мес. до 4,5 года по различным причинам умерло еще 7 больных. Всего за анализируемый период произошло 25 потерь трансплантата (смерть реципиента или ретрансплантация). Ранняя дисфункция трансплантата (включая случаи ПНФТ) имела место в 51 наблюдении (36,7%) и статистически достоверно влияла на его выживаемость ($p < 0,0005$) (рис. 10).

За весь период наблюдения в группе РДТ-наблюдения было утрачено 38,3% трансплантатов, тогда как в контрольной группе только 6,8% ($p < 0,05$). На основании полученных данных мы можем прийти к заключению, что РДТ является достоверным независимым предиктором неблагоприятного исхода трансплантации, особенно в раннем послеоперационном периоде. На фоне РДТ риск потери трансплантата увеличивается в 5,6 раза.

Предикторы ранней дисфункции трансплантата. В связи с установленным фактом выраженного отрицательного влияния РДТ на непос-

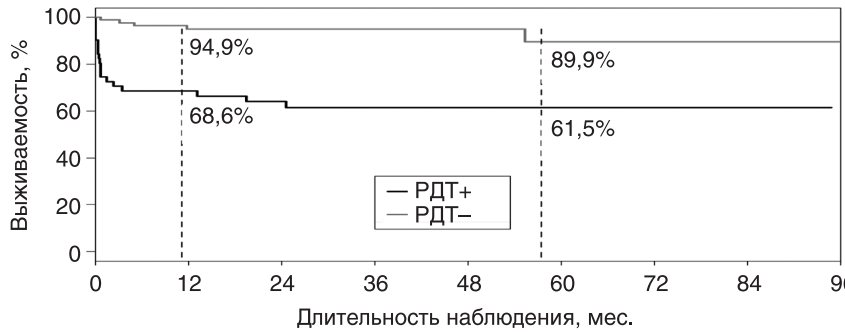


Рис. 10. **Выживаемость трансплантатов в зависимости от развития РДТ**

редственные исходы трансплантации в попытке определить возможные предикторы РДТ нами было проведено сравнение некоторых донорских характеристик в группах пациентов с РДТ и без РДТ: возраст донора, длительность нахождения в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), длительность ИВЛ, уровень билирубина, АСТ, АЛТ, натрия, а также длительность холодовой ишемии. Ни по одному из перечисленных показателей достоверных различий между группами обнаружено не было. Только в отношении времени холодовой ишемии была выявлена отчетливая тенденция влияния на развитие РДТ ($p = 0,07$).

При проведении однофакторного анализа использовали следующие донорские факторы: возраст донора, длительность ИВЛ, уровень натрия, степень стеатоза донорской печени при ретроспективном гистологическом исследовании, длительность холодовой ишемии (табл. 5). Было установлено, что отношение шансов развития ранней дисфункции трансплантата статистически значимо не зависело от возраста донора, длительности ИВЛ, уровня натрия и степени стеатоза. При этом следу-

Таблица 5

Результаты однофакторного анализа

Фактор	Граница	Отношение шансов развития РДТ	95% доверительный интервал	p
Возраст донора	50 лет	1,87	0,83–4,24	0,13
Длительность ИВЛ	120 ч	1,10	0,90–1,36	0,36
Уровень натрия	155 мкмоль/л	1,78	0,84–3,76	0,13
Степень стеатоза	20%	2,48	0,86–7,39	0,09
Время холодовой ишемии	**Каждый дополнительный час**	**1,3**	**1,05–1,63**	**<0,05**

ет оговориться, что для трансплантации использовались доноры с предельно допустимым (т. е. после кондиционирования) уровнем натрия не более 170 ммоль/л, за исключением 12 наблюдений, а ультразвуковая и визуальная оценка стеатоза не превышала 50%. Единственным значимым фактором явилась продолжительность холодовой ишемии.

Далее все трансплантаты были условно разделены на три группы в зависимости от продолжительности холодовой ишемии: не более 6 ч, от 6 до 9 ч и более 9 ч. Было установлено, что частота РДТ в первой группе (холодовая ишемия не более 6 часов) составила 22,9%, во второй группе (6–9 ч) – 39,7%, а при длительности холодовой ишемии более 9 ч – 61,1% (рис. 11).

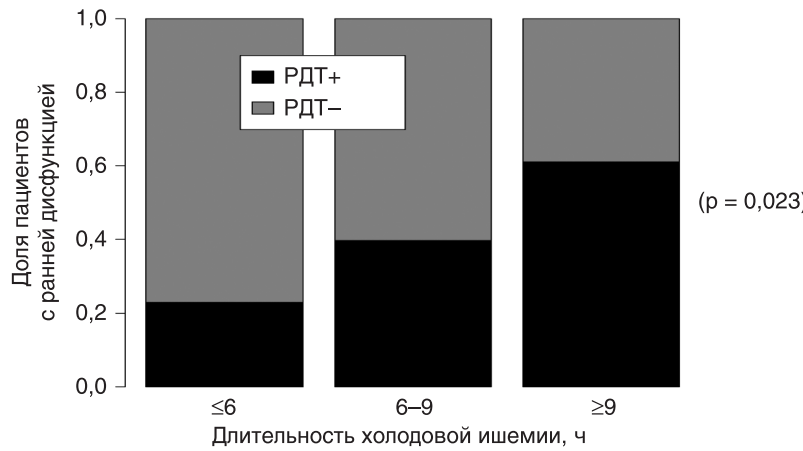


Рис. 11. **Частота развития РДТ в зависимости от продолжительности холодовой ишемии трансплантата**

Частота РДТ была статистически значимо выше в группе реципиентов, получивших трансплантаты с продолжительностью холодовой ишемии более 9 ч по сравнению с реципиентами, у которых срок консервации донорского органа не превысил 6 ч (p = 0,023).

Таким образом, проведенный анализ не выявил достоверного влияния какого-либо отдельного исходного донорского фактора на развитие РДТ. При этом к категории стандартного донора (см. раздел «Материалы и методы») могут быть отнесены только 33 (24%) донора, использованных для трансплантации печени. Остальные 106 (76%) доноров имели одно или несколько клинико-лабораторных отклонений, позволяющих отнести их к категории ДПРК. Частота РДТ в группе, получившей трансплантат от стандартного донора, составила 21,2%, а от ДПРК – 40,6% (p = 0,0431, различия достоверны), а частота ПНФТ составила 0,0 и 8,5% соответственно (p = 0,0835, различия недостоверны) (табл. 6).

Таблица 6

Частота РДТ и ПНФТ в категориях стандартных доноров и доноров печени с расширенными критериями

Параметр	Стандартные доноры (n = 33)	ДПРК (n = 106)	p (хи-квадрат)
РДТ	**7 (21,2%)**	**44 (40,6%)**	**0,0431**
ПНФТ	0 (0,0%)	9 (8,5%)	0,0835

Полученные данные со всей очевидностью свидетельствуют, что расширение донорских критериев сказывается отрицательно на частоте развития РДТ. В большинстве случаев РДТ обратима. Но риск развития ПНФТ определяется в равной степени как донорскими, так и реципиентскими факторами (исходная тяжесть состояния реципиента, оценка по MELD, объем кровопотери и кровезамещения, время тепловой ишемии и др.), которые требуют дальнейшего изучения в многофакторном анализе.

ВЫВОДЫ

1. Комплексный подход к организации и реализации программы мультиорганного донорства в отдельном регионе позволяет обеспечить до 20 эффективных доноров на 1 млн населения в год с частотой постановки диагноза «смерть мозга» до 90%. Принятие расширенных критериев пригодности печени для трансплантации делает допустимым ее использование не менее чем в 60% случаев. Таким образом, число выполняемых трансплантаций печени при реализации таких целевых показателей может составлять 10 и более на 1 млн населения в год.
2. Усовершенствованная хирургическая тактика и методология эксплантации абдоминальных органов в разработанных вариантах, в том числе разделение печени *in situ* для сплит-трансплантаци, комбинированное изъятие печени и панкреато-дуоденального комплекса, экстракорпоральная (*ex situ*) артериальная и венозная реконструкция, позволяют максимально эффективно использовать все пригодные органы.
3. На фоне проведения адекватных мероприятий по кондиционированию потенциального донора абсолютными противопоказаниями к донорству печени перед мультиорганной эксплантацией являются: некорригируемая гипернатриемия более 180 ммоль/л, неуправляемая гипотензия, значительное повышение эхогенности печени по данным УЗИ. В остальных случаях наличия расширенных критериев донора требуется интраоперационная визуальая оценка печени.
4. Экспертная оценка печени потенциального донора, включающая комплексную ультразвуковую и визуальную характеристику, позволяет обоснованно (чувствительность – 83,3%, специфичность –

97,5%.) отказаться от использования трансплантатов с выраженным макровезикулярным стеатозом (более 50%), что подтверждается данными ретроспективного гистологического исследования. Срочное гистологическое исследование биоптата донорской печени не требуется в большинстве случаев.

5. Ранняя дисфункция трансплантата печени (РДТ) развивается в 36,7% наблюдений и в 5,6 раза увеличивает риск потери трансплантата. Допустимое расширение отдельных донорских критериев (76% эффективных доноров) увеличивает в 2 раза частоту развития РДТ, но риск первично не функционирующего трансплантата (ПНФТ) определяется в равной степени как донорскими, так и реципиентскими факторами. Ни один из факторов донора в пределах принятых ограничений не оказывает самостоятельного влияния на исходы трансплантации, но их сочетания следует избегать.
6. Частота РДТ и ПНФТ при использовании для перфузии и консервации печени раствора « Кустодиол» достоверно уменьшается при сроке холодовой ишемии менее 6 часов. Для достижения этого условия требуется четкая координация между донорской и трансплантационной хирургическими бригадами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для увеличения эффективного донорского пула необходимо расширение территорий, участвующих в донорских программах, административно-организационная и образовательная работа, направленная на развитие мультиорганного донорства в сочетании с регулярным аудитом смертности.
2. После констатации СМ для коррекции несахарного диабета при явлениях полиурии у донора целесообразно интраназальное введение аналога антидиуретического гормона в один или несколько приемов.
3. Использование аналогов антидиуретического гормона, в сочетании с введением необходимого объема растворов, не содержащих Na^+ (калия-магния аспарагинат, 5% раствор глюкозы), достигая целевых показателей ЦВД под контролем диуреза, позволяет избежать развития гипернатриемии у донора.
4. При наличии гипернатриемии у донора (более 170 ммоль/л) необходимо осуществлять промывание желудка через зонд до «чистой воды» с последующим введением одного литра воды в желудок с экспозицией на 30 мин, с периодическим повторением процедуры, и параллельно с этим проводить внутривенную инфузию 0,45% раствора NaCl в объеме не менее 1000 мл, до достижения содержания Na^+ ниже 170 ммоль/л.

5. Дренирования НПВ армированной канюлей диаметром не менее 40 Fr на уровне ее инфраренального отдела достаточно, чтобы не вскрывать ее со стороны полости перикарда и обеспечивать адекватный отток крови и перфузата при осуществлении холодовой перфузии.
6. Отток перфузирующей жидкости через дренирующую канюлю НПВ, минуя брюшную полость, и минимизация количества перфузата, попадающего в грудную и брюшную полость, позволяют обеспечить качественную наружную холодовую защиту эксплантируемых органов.
7. Изъятие печени до пересечения 12-перстной кишки при одновременной эксплантации панкреато-дуоденального комплекса позволяет избежать возможного инфицирования и сокращает время изъятия.
8. Прецизионное выделение общей печеночной артерии до уровня селезеночной артерии с целью визуализации и сохранения средне-панкреатической артерии позволяет осуществить изъятие поджелудочной железы без ущерба для последней.
9. Прекращение дальнейшей диссекции печеночной артерии при наличии средне-панкреатической артерии и пересечение печеночной артерии дистальнее последней несколько укорачивает артерию трансплантата печени. Однако иссечение чревного ствола и селезеночной артерии вместе с поджелудочной железой упрощает этап сосудистой реконструкции при трансплантации поджелудочной железы.
10. При наличии отека донорской печени целесообразно проведение противоотечной терапии – в/в введение раствора «Маннита» 150 мг/мл в объеме 200–400 мл, с начала эксплантации до момента начала холодовой перфузии.
11. Ретроспективное гистологическое исследование изъятой печени способствует набору опыта визуальной оценки у хирурга, выполняющего эксплантацию.
12. Визуальную оценку донорской печени и принятие решения о ее пригодности для трансплантации должен производить хирург-эксперт, обладающий опытом не менее 50 самостоятельных эксплантаций.
13. Пережатие надпеченочнго и подпеченочного отделов НПВ с одновременным введением консервирующего раствора через воротную вену (с высоты 1 м от стола) до хорошего наполнения полой вены во время экстракорпоральной подготовки трансплантата печени способствует более качественному отмыванию трансплантата и позволяет выявить мелкие дефекты и подтекание консерванта из них и уверенно восстановить герметичность НПВ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Ермолов А.С., Чжао А.В.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Актуальные вопросы органного донорства // Российский медицинский журнал. – 2005. – № 4. – С. 3–8.
2. *Ермолов А.С., Гуляев В.А.,* ***Погребниченко И.В.*** Доноры с небьющимся сердцем при трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2005. – № 4. – С. 43–51.
3. *Гуляев В.А.,* ***Погребниченко И.В.****, Луцик К.Н. и др.* Трансплантация печени от маргинальных доноров // Материалы конференции «Новые технологии в диагностике, интервенционной медицине и хирургии печени и поджелудочной железы», 8–10 июня. Тезисы докладов. – СПб., 2005. – С. 133.
4. *Гуляев В.А.,* ***Погребниченко И.В.*** Причины дефицита донорских органов и возможные пути их устранения // Материалы городской научно-практической конференции «Органное донорство». Тезисы докладов. – М., 2006. – С. 8–10.
5. *Ермолов А.С., Чжао А.В., Гуляев В.А., Андрейцева О.И., Журавель С.В., Джаграев К.Р.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Возможности использования инфицированных трупных доноров для выполнения трансплантации печени // Хирургия. – 2006. – № 3. – С. 72–77.
6. *Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Шаршаткин А.В., Илжанов М.И., Гуляев А.В.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Эволюция хирургической техники ортотопической трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2006. – № 2. – С. 18–23.
7. *Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Шагидулин М.Ю., Минина М.Г., Гуляев В.А.,* ***Погребниченко И.В.*** Техника забора печени для трансплантации // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2006. – Т. 8. – № 4. – С. 6–10.
8. *Гуляев В.А.,* ***Погребниченко И.В.****, Журавель С.В., Чжао А.В.* Качество трансплантата и прогноз исхода при трупной трансплантации печени // Материалы научной конференции «Актуальные вопросы трансплантации печени и органного донорства». Тезисы докладов. – СПб., 2007. – С. 20–21.
9. *Reznik O.N., Bagnenko S.F., Loginov I.V.,* ***Pogrebnichenko I.V.*** *et al.* Transplant coordination in Russia. First experience // Abstract Supplement of 2007 Organ and Tissue Donation Congress, 9th ISODP & 6th ITCS. – Philadelphia, USA, 2007. – P. 43.
10. *Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Шагидулин М.Ю., Шаршаткин А.В., Илжанов М.И., Милосердов И.А., Корнилов М.Н., Гуляев В.А.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Оптимизация выполнения трансплантации трупной печени // Материалы научной конференции «Актуальные вопросы трансплантации печени и органного донорства». г. Санкт-Петербург. Тезисы докладов. – 2007. – С. 23–24.
11. *Багненко С.Ф.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Трансплантационная координация и дистанционный забор органов: первый эффективный опыт и перспекти-

вы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2008. – № 3. – С. 27–32.

12. *Багненко С.Ф., Резник О.Н., Логинов И.В., Христофоров А.А.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Первый успешный опыт дистанционного забора печени в Российской федерации. Перспективы межрегиональной трансплантационной координации // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2008. – Т. 10. – № 3. – С. 3–6.
13. *Готье С.В., Мойсюк Я.Г.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Первый опыт SPLIT-трансплантации печени // IV Всероссийский съезд трансплантологов. Тезисы докладов. – М., 2008. – С. 192–193.
14. *Корнилов М.Н., Милосердов И.А.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Интраоперационный выбор техники кава-кавальной реконструкции при ортотопической трансплантации печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2008. – Т. 5. – № 5. – С. 17–22.
15. *Шумаков В.И., Мойсюк Я.Г., Козлов И.А., Попцов В.Н., Милосердов И.А., Шаршаткин А.В., Илжанов М.И., Илжанова Н.Ю., Корнилов М.Н., Тырин В.В., Ярошенко Е.Б., Корчилава М.А., Шагидулин М.Ю., Морозов Б.Н., Муха А.В.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Опыт трансплантации печени в одном центре: современные технологии и проблемы улучшения результатов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2008. – Т. 10. – № 1. – С. 5–13.
16. *Reznik O.N., Bagnenko S.F., Loginov I.V., Kechaeva N.V., Fedotov V.A.,* ***Pogrebnichenko I.V.****, Moysyuk Y.G.* Transplant coordination in Russia: first experience // Transplantation Proceedings. – 2008. – Vol. 40. – № 4. – P. 1014–1017.
17. *Резник О.Н., Полушин Ю.С., Багненко С.Ф.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Кризис в органном донорстве: роль образовательных программ в его преодолении // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2009. – Т. 6. – № 2. – С. 17–25.
18. *Шагидулин М.Ю., Габриелян Н.И., Спирина Т.С.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Предупреждение инфекционных осложнений при трансплантации печени. (Материалы Всероссийской конференции «Инфекции в трансплантологии». Москва, 3–4 декабря) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2009. – Т. 11 (Приложение). – С. 20–21.
19. *Shagidulin M., Gabrielyan N., Spirina T.,* ***Pogrebnichenko I.*** *et al.* Bacterial analysis of liver perfusate as a major factor in prevention of infectious complications during transplantation // European surgery ACA. – 2010. – Vol. 42. Suppl. 237. – P. 48.
20. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Аммосов А.А., Арзуманов С.В., Попцов В.Н.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Сочетанная трансплантация печени и поджелудочной железы: Первый опыт в отечественной практике. (Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов, 8–10 октября, Москва) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2010. – Т. 12 (Приложение). – С. 110–111.
21. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Аммосов А.А., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Хизроев Х.М., Арзуманов С.В., Гамгия Н.В., Ухренков С.Г., Пчельников В.В.,*

Муратова Н.Ш., Пец В.А., ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Трансплантация печени у детей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010.– № 2. – С. 6–7.

22. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Аммосов А.А, Хирзоев Х.М., Арзуманов С.В., Гамгия Н.В., Попцов В.Н., Ухренков С.Г., Пчельников В.В., Муратова Н.Ш., Пец В.А., Чеклецова Е.В., Цирульникова И.Е.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Трансплантация печени у детей. (Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов, 8–10 октября, Москва) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2010. – Т. 12 (Приложение). – С. 112–113.
23. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Попцов В.Н., Арзуманов С.В.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Сочетанная трансплантация печени и поджелудочной железы: Первая операция в отечественной практике // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12. – № 4. – С. 27–32.
24. *Мойсюк Я.Г.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Программа мультиорганного донорства ФНЦТИО им. В.И. Шумакова на территории Московской области (Материалы III Международной научно-практической конференции «Высокие технологии в медицине», Н. Новгород) // Современные технологии в медицине. – 2010. – № 1 (2). – С. 17–18.
25. *Мойсюк Я.Г.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Трансплантация трупной печени в Центре им. академика В.И. Шумакова // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – № 2. – С. 8–9.
26. *Мойсюк Я.Г.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Развитие мультиорганного донорства в Московской области. (Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов, 8–10 октября, Москва) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2010. – Т. 12 (Приложение). – С. 8–9.
27. Правовые, организационные и клинические аспекты органного донорства. Методические рекомендации (сост. Готье С.В., **Погребниченко И.В.**, Мойсюк Я.Г.). – М.–Тверь: Триада, 2010. – 76 с.
28. *Шемакин С.Ю.,* ***Погребниченко И.В.****, Голубицкий В.В. и др.* Особенности проведения холодовой перфузии при мультиорганной эксплантации. (Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов, 8–10 октября, Москва) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2010. – Т. 12 (Приложение). – С. 23–24.
29. *Шкалова Л.В., Минина М.Г., Можейко Н.П., Куренкова Л.Г., Ильинский И.М.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Морфология кадаверной донорской печени. (Материалы конференции «Трансплантация печени в России: 20 лет спустя») // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12. – № 2. – С. 24–25.
30. *Багненко Н.Ф., Резник О.Н., Мойсюк Я.Г.,* ***Погребниченко И.В.*** Перспективы развития органного донорства // МЦФЭР: Здравоохранение. – 2011. – № 11. – С. 40–47.
31. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Аммосов А.А., Лурье Ю.Э., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Опыт АВ0-несовместимых транс-

плантаций печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. 13. – № 2. – С. 21–23.

32. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Попцов В.Н., Арзуманов С.В.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Первый опыт одномоментной трансплантации печени и поджелудочной железы // Анналы хирургической гепатологии. – 2011. – Т. 16. – № 1. – С. 28–32.
33. *Багненко С.Ф., Полушин Ю.С., Мойсюк Я.Г., Резник А.О., Логинов И.В.,* ***Погребниченко И.В.****, Резник О.Н.* Анализ причин дефицита доноров органов и основные направления его преодоления // Трансплантология. – 2011. – № 2–3. – С. 10–22.
34. ***Погребниченко И.В.****, Мойсюк Я.Г., Резник О.Н.* Есть ли законные основания для участия стационаров в программе органного донорства? // МЦФЭР: Здравоохранение. – 2012. – № 1. – С. 40–48.
35. ***Погребниченко И.В.****, Мещерин С.С.* Динамика мультиорганного донорства в Московской области в 2008–2012 гг. (Материалы VI Всероссийского съезда трансплантологов, 24–27 сентября, Москва) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2012. – Т. 14 (Приложение). – С. 14.
36. *Губарев К.К.,* ***Погребниченко И.В.****, Крстич М., Бельских Л.В., Вавилов А.В., Федюнин А.А.* Внедрение современных технологий для расширения донорского пула в Московской области. (Материалы VI Всероссийского съезда трансплантологов, 24–27 сентября, Москва) // Вестник трансплантологии и искусственных органов. Тезисы докладов. – 2012. – Т. 14 (Приложение). – С. 23.
37. *Готье С.В, Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Корнилов М.Н., Цирульникова О.М., Ярошенко Е.Б., Милосердов И.А.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Опыт 100 трансплантаций трупной печени в одном центре // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 1. – С. 6–14.
38. *Губарев К.К., Крстич М.,* ***Погребниченко И.В.*** *и др.* Практическое использование экстракорпоральной мембранной оксигенации у донора после внезапной сердечной смерти в Московской области // Академический журнал Западной Сибири. – 2013. – Т. 9. – № 5 (48). – С. 30.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
ДПРК – донор печени с расширенными критериями
ИВЛ – искусственная вентиляция легких
КЩС – кислотно-щелочное состояние
МНО – Международное нормализованное отношение
МО – Московская область
МОД – мультиорганный донор

ОКОД – отделение координации органного донорства
ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
ОТП – ортотопическая трансплантация печени
ОЦК – объем циркулирующей крови
ПЖ – поджелудочная железа
ПНФТ – первично не функционирующий трансплантат
РДТ – ранняя дисфункция трансплантата
СЛК – сердечно-легочный комплекс
СМ – смерть мозга
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФНЦ – Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова
ЦВД – центральное венозное давление
ЧМТ – черепно-мозговая травма

Спирина Екатерина Александровна

РАННЯЯ АКТИВИЗАЦИЯ РЕЦИПИЕНТОВ ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

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

Научный консультант:
доктор биологических наук,
профессор **Попцов Виталий Николаевич**

Актуальность темы

Лечение реципиентов в раннем периоде после ортотопической трансплантации сердца (ОТС) является сложной клинической задачей, что связано с высокой частотой возникновения нарушений насосной функции сердечного трансплантата на ранних сроках после операции, повышенным риском развития полиорганных нарушений, инфекционных и других возможных осложнений [Cheng D.C. et al., 1996; Hunt S.A. et al., 2008; Kaplan J.A., 2008].

До последнего времени традиционным подходом к ведению реципиентов в раннем периоде после ОТС считалось проведение продленной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) до момента восстановления удовлетворительной функции пересаженного сердца и других систем организма, в связи с чем выполнение ранней активизации после пересадки сердца не представлялось реалистичным [Myles P.S. et al., 2003; Stanley T.H. et al., 1978].

Возраст реципиентов, повторный характер оперативного вмешательства на грудной клетке, наличие предшествующих нарушений функции

почек, печени, респираторных и неврологических расстройств, высокая легочная гипертензия, предтрансплантационное применение механической поддержки кровообращения, субоптимальные показатели донорского сердца (возраст, гипертрофия миокарда, кардиотоническая и/или вазопрессорная поддержка, длительность ишемии трансплантата и др.), значимые нарушения насосной функции сердечного трансплантата, требующие применения высокой кардиотонической поддержки и/или вспомогательного кровообращения, длительное искусственное кровообращение (ИК), значимая периоперационная кровопотеря, возникновение полиорганной дисфункции и других послеоперационных осложнений могут ограничивать возможность ранней активизации после ТС [Bruschi G. et al., 2011; Dorsa A.G. et al., 2011; Quigley R.L. et al., 1997; Козлов И.А., 2008; Маркин С.М., 1997].

Однако улучшение непосредственных результатов ТС (госпитальная летальность менее 10%), а также успешное внедрение в зарубежную и отечественную анестезиологическо-реанимационную практику методики раннего прекращения ИВЛ после кардиохирургических операций, выполненных в условиях ИК, создало предпосылки для выполнения ранней активизации и после пересадки сердца [Konstantakos A. et al., 2000; Montes F.R. et al., 2000; Алферов А.В., 1997].

Как показали многочисленные исследования, при строгом соблюдении показаний ранняя активизация способствует сокращению послеоперационного лечения в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), снижению риска развития неинфекционных и инфекционных (в том числе нозокомиальных) легочных осложнений (ателектазирование, трахеобронхит, пневмонии др.), улучшению функции сердечно-сосудистой системы, устранению дискомфорта, связанного с длительным нахождением интубационной трубки в трахее и проведением ИВЛ и т. п. [Cheng D.C. et al., 2003; Svircevic V. et al., 2009]. Накопленный за последние годы опыт ранней активизации после операций с ИК также позволил выявить факторы, как способствующие, так и ограничивающие выполнение экстубации трахеи в ранние сроки после операции. Единичный клинический зарубежный опыт (Medical City Dallas Hospital, Dallas, USA) ранней активизации на операционным столе после ТС продемонстрировал возможность осуществления данной методики и у реципиентов сердца [Horswell J. et al., 2008].

В последние годы расширение программы ОТС в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» (далее ФГБУ «ФНЦТИО»), а также многолетний опыт ранней активизации различных категорий кардиохирургических больных после операций с ИК позволил реализовать возможность раннего прекращения ИВЛ и у реципиентов после пересадки сердца [Алферов А.В., 1997; Евдокимов Н.И., 1975; Козлов И.А., 2000; Маркин С.М., 1997].

Цели и задачи исследования

Цель исследования: обосновать внедрение тактики раннего прекращения искусственной вентиляции легких после трансплантации сердца с целью оптимизации ведения реципиентов в послеоперационном периоде. Для реализации поставленной цели исследования решали следующие задачи:

1. Выявить факторы, способствующие или ограничивающие раннее прекращение искусственной вентиляции легких после трансплантации сердца.
2. Изучить характер изменений показателей системной и легочной гемодинамики, насосной функции сердечного трансплантата, газообменной функции легких и показателей метаболизма при выполнении активизации у реципиентов сердца в раннем посттрансплантационном периоде.
3. Сравнить характер течения посттрансплантационного периода у реципиентов сердца с разными сроками послеоперационной искусственной вентиляции легких.
4. Изучить эффективность влияния продленной высокой грудной эпидуральной анальгезии и использования сугаммадекса для фармакологической реверсии нервно-мышечного блока на сроки послеоперационной активизации у реципиентов сердца.
5. Разработать протокол ранней активизации реципиентов после трансплантации сердца.

Научная новизна работы

Новым направлением ведения реципиентов после ортотопической трансплантации сердца (ОТС) является ранняя активизация в послеоперационном периоде, позволяющая улучшить функцию сердечно-сосудистой системы, уменьшить количество послеоперационных легочных осложнений, сократить сроки нахождения в ОРИТ и продолжительность госпитализации.

Практическая значимость работы

Представленная работа является исследованием, посвященным ранней активизации реципиентов в условиях операционной после ОТС. На основании результатов комплексного исследования газообмена и гемодинамики продемонстрирована возможность раннего прекращения ИВЛ в раннем послеоперационном периоде, определены показания и противопоказания для начала активизации реципиентов сердца. Разработка новых подходов к ведению раннего послеоперационного периода позволит улучшить результаты трансплантаций сердца.

Положения, выносимые на защиту

1. Активизация (экстубация) реципиентов сердца на операционном столе является стандартным протоколом при неосложненном течении трансплантации.
2. Ранняя активизация способствует улучшению насосной функции сердечного трансплантата и уменьшает вероятность развития легочных осложнений в послеоперационном периоде.
3. Применение программы ранней активизации при ортотопической трансплантации сердца позволяет сократить продолжительность пребывания пациентов в ОРИТ и в стационаре.
4. Выполнение ранней активизации определяется предтрансплантационным статусом, сократительной способностью пересаженного сердца, показателями гемодинамики и газообменной функции легких во время операции.
5. Использование высокой грудной эпидуральной анальгезии позволяет сократить сроки активизации и улучшить показатели функции внешнего дыхания у реципиентов сердца.
6. Применение препарата сугаммадекса перед экстубацией трахеи способствует быстрой реверсии нейромышечного блока и значимому уменьшению времени послеоперационной активизации.

Апробация диссертации

Апробация диссертации состоялась 26 декабря 2013 г. в ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития России.

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены: на XI сессии Московского научного общества анестезиологов-реаниматологов (г. Голицыно, 2010); на XIV ежегодной сессии научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН с всероссийской конференцией молодых ученых (г. Москва, 16–18 мая 2010); на V Всероссийском съезде трансплантологов (г. Москва, 2010); на IV международной конференции «Проблемы безопасности в анестезиологии» (г. Москва, 4–5 октября 2011); на XII сессии Московского научного общества анестезиологов-реаниматологов (г. Москва, 2012).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 6 в центральных рецензируемых журналах.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 133 источника, включая работы отечественных и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 11 рисунками и 60 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика пациентов. В исследование включили 184 больных: 162 мужчины (88,0%) и 22 (18,0%) женщины, которым выполнили 188 трансплантаций сердца, из которых 184 (97,9%) были первичными ортотопическими трансплантациями сердца (ОТС) и 4 (2,1%) – повторными ОТС (реОТС). Возраст реципиентов составил от 14 до 73 (44,9 ± 1,6), масса тела – 78,6 ± 1,5 кг, площадь поверхности тела (D) – 1,95 ± 0,02 м, индекс массы тела (ИМТ) – 25,4 ± 0,4. Показаниями к ОТС и реОТС были следующие заболевания: дилятационная кардиомиопатия (ДКМП) – 109 (58,0%), ишемическая болезнь сердца (ИБС) – 70 (37,3%), гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – 4 (2,1%), рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) – 1 (0,5%), необратимая ранняя дисфункция сердечного трансплантата – 1 (0,5%) и необратимая отсроченная дисфункция сердечного трансплантата – 3 (1,6%). Выраженность ХСН по классификации В.Х. Василенко и И.Д. Стражеско соответствовала IIА стадии у 18 (9,8%), IIБ стадии – у 154 (83,7%) и III стадии – у 12 (6,5%) пациентов. Тяжесть ХСН по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (NYHA) у 123 (66,8%) реципиентов соответствовала III функциональному классу (ФК), у 61 (33,2%) – IV ФК. В соответствии с алгоритмом единой сети распределения органов UNOS (United Network for Organ Sharing) [Renlund D.G. et al., 1999] неотложность выполнения ОТС соответствовала 1А-статусу у 20 (10,9%) пациентов, 1Б-статусу – у 72 (39,1%) и 2-му статусу – у 92 (50,0%).

У всех реципиентов в дотрансплантационном периоде имелась различной степени выраженности предтрансплантационная легочная гипертензия (ЛГ). По данным дооперационного инвазивного обследования центральной гемодинамики, ЛГ 1А-степени по классификации НИИТиИО [Шумаков В.И. и др., 1998] диагностировали у 89 (48,4%), 1Б-степени – у 91 (49,5%) и 2-й степени – у 4 (2,1%) реципиентов. ТС были выполнены больным с предтрансплантационной ЛГ, соответствующей 1А- или 1Б-степени по классификации НИИТиИО [Шумаков В.И. и соавт., 1998].

В предтрансплантационном периоде из 184 реципиентов у 23 (12,5%) с крайне тяжелой сердечной недостаточностью применили различные варианты вспомогательного кровообращения (ВК). У 6 (3,3%) из 184 использовали внутриаортальную баллонную контрпульсацию (ВАБК), у 14 (7,6%) – вено-артериальную экстракорпоральную мембранную оксигенацию (ВА ЭКМО), у 1 (0,5%) – ВАБК в сочетании с ЭКМО. Одному из реципиентов (0,5%) имплантировали систему «EXCOR» и одному (0,5%) – «INCOR».

Характеристика мультиорганного донора

В 100% наблюдений (n = 184) выполнили дистанционный забор сердечного трансплантата от мультиорганного донора (161 мужчина и 23 женщины). Возраст сердечного донора составил от 18 до 59 (34,3 ± 10,4) лет.

Причинами смерти мозга у донора явились: открытая черепно-мозговая травма (n = 12; 6,5%), закрытая черепно-мозговая травма (n = 132; 71,7%), острое нарушение мозгового кровообращения по геморрагическому типу (n = 23; 12,5%), разрыв аневризмы сосуда головного мозга (n = 14; 7,6%), опухоль мозга (n = 1; 0,56%), алкогольная интоксикация, отек мозга (n = 1; 0,56%), утопление (n = 1; 0,56%).

Для оценки приемлемости сердца донора к последующей трансплантации использовали балльную оценку по шкале Eurotransplant Donor Heart Score, основанную на прогностической значимости следующих параметров: возраст донора (от 1 до 11 баллов); причина смерти мозга (от 1 до 7 баллов); наличие отягощенного анамнеза (сепсис, злокачественные опухоли, менингит) (от 1 до 19); артериальная гипертензия (от 1 до 2 баллов); наличие эпизода остановки кровообращения (от 1 до 2 баллов); величина ФВ ЛЖ (от 1 до 22 баллов); функция клапанов донорского сердца (от 1 до 7 баллов); степень гипертрофии миокарда ЛЖ (по ЭХО КГ) (от 1 до 4 баллов); данные коронарографии (от 1 до 70); уровень Na^+ (от 1 до 3 баллов); величина кардиотонической поддержки норадреналином (от 1 до 5 баллов), допамином (от 1 до 2 баллов) или добутамином (от 1 до 2 баллов). Сумма баллов < 17 указывала на наличие оптимальных критериев донорского сердца для последующей трансплантации, сумма баллов ≥ 17 – на субоптимальные критерии. С целью стабилизации системной гемодинамики во время кондиционирования у 157 (85,4%) из 184 сердечных доноров использовали допамин или норадреналин.

Консервацию сердечного трансплантата осуществляли методом фармакохолодовой кардиоплегии раствором Bretschneider-HTK (Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate, «Кустадиол» 3000 мл), вводимым в корень аорты после наложения аортального зажима.

Хирургическая методика выполнения ОТС

Трансплантацию сердца производили по одной из принятых в ФГБУ «ФНЦТИО им. академика В.И. Шумакова» хирургических методик: биатриальной, бикавальной или комбинированной (формирование тканевого «мостика» из стенки правого предсердия, соединяющего верхнюю и нижнюю полые вены).

Методика анестезиологического пособия и искусственного кровообращения

Все пациенты основной и контрольной групп были оперированы в условиях многокомпонентной общей анестезии. Для индукции анестезии использовали: пропофол 0,9 ± 0,2 мг/кг, фентанил 2,8 ± 0,9 мкг/кг, рокурония бромид 1,1 ± 0,1 мг/кг. В предперфузионном периоде поддержание анестезии осуществляли пропофолом (целевая концентрация 1,5 ± 0,3 мкг/мл), севофлюраном (1,4 ± 0,3 об./%), фентанилом. В качестве кардиотонической терапии в предперфузионном периоде использовали: допамин 4,3 ± 2,5 мкг/кг/мин (n = 117), добутамин 4,4 ± 1,9 мкг/кг/мин (n = 35), адреналин 41,4 ± 10 нг/кг/мин (n = 11). Во время ИК анестезию поддерживали пропофолом (0,9 ± 0,8 мкг/мл), фентанилом и рокурония бромидом, в постперфузионном периоде – пропофолом (целевая концентрация 0,9 ± 0,6 мкг/кг), фентанилом и рокурония бромидом. Средний расход пропофола за операцию составил 2,2 ± 0,4 мг/кг/ч, фентанила 17,9 ± 0,6 мкг/кг, рокурония бромида – 1,7 ± 0,3 мг/кг.

Ведение анестезиологических и кардиотонических препаратов проводили автоматическими дозаторами Perfusor Compacts (BBraun, Германия) с помощью анестезиологической станции FM Contoller (BBraun, Германия).

Для проведения искусственного кровообращения (ИК) использовались аппараты ИК Stockert (фирма Stockert Ins., Германия). Перфузию проводили в непульсирующем режиме с перфузионным индексом 2,4–2,5 л/мин/м, средним артериальным давлением 60–80 мм рт. ст. и содержанием гемоглобина в крови не менее 75 г/л. Средняя продолжительность ИК составила 137,83 ± 45,29 мин, глубина гипотермии от 22,7 до 35,0 (30 ± 2,6) °С.

Искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) проводили аппаратом Kion (SiemensElema AB, Швеция) с FiO_2 0,4–0,9, ДО 8,5 ± 0,3 мл/кг и уровнем положительного давления конца выдоха (ПДКВ) 3–5 см вод. ст.

С целью профилактики повышения тонуса сосудов малого круга у всех реципиентов в раннем посттрансплантационном периоде применили инсуфляцию ингаляционного оксида азота (иNO) (20 ppm).

Продолжительность анестезии составила от 180 до 1180 (471 ± 16) мин, продолжительность оперативного вмешательства – от 170 до 1035 (329 ± 14) мин.

Интра- и послеоперационный мониторинг центральной гемодинамики

Для мониторинга гемодинамики использовали модульную мониторную систему Agilent M1167A (Phillips). Регистрировали: АД ср. – среднее артериальное давление (мм рт. ст.); ЧСС – частоту сердечных сокращений (уд./мин); ДПП – давление правого предсердия (мм рт. ст.); СДЛА – систолическое давление легочной артерии (мм рт. ст.); ДЛА ср. – среднее давление легочной артерии (мм рт. ст.); ДДЛА – диастолическое давление легочной артерии (мм рт. ст.); ЗДЛА – заклинивающее давление легочной артерии (мм рт. ст.). Сердечный выброс (СВ, л/мин) определяли методом непрерывной термодилюции, и непрерывную термодилюционную волюметрию правого желудочка проводили с помощью мониторов Explorer (Baxter Healthcare Corporation, США), Vigilance CEDV, Vigilance II (Edwards Lifeciences LLC, США), применяли волюметрические катетеры Swan-Ganz EJECTION FRACTION Cath (93A-435H-7.5F) (Edward Swan-Ganz®REF Volumetric TD Catheter, Baxter Healthcare Corporation, США).

Методика исследования параметров газового состава крови и кислотно-основного состояния. Показатели газового состава крови и кислотно-основного состояния (КОС) определяли с помощью автоматических газоанализаторов ABL 705, ABL 725 или ABL 800 Flex (Radiometer Copengagen, Дания).

С целью исследования функции внешнего дыхания использовали спирометр BreezeSuite Software CPFS/D USB Training Manual (MedGraphics Corporation 2006–2007).

Применение высокой грудной эпидуральной анальгезии у реципиентов сердца

Эпидуральную пункцию проводили после интубации трахеи, из пара-медиального доступа в положении пациента лежа на боку, на уровне Th4–6. Для идентификации эпидурального пространства использовали тест потери сопротивления. Убедившись, что игла не находится в сосуде или спинномозговом канале, в нее вводили катетер и продвигали его на расстояние 4–5 см. Для подтверждения правильного расположения эпидурального катетера использовали пробную дозу 1% р-ра лидокаина – 3 мл (рис. 1).

Применение ВГЭА начинали после включения трансплантированного сердца в кровообращение. Клиническими условиями для начала применения ВГЭА в раннем посттрансплантационном периоде считали удовлетворительную насосную функцию сердечного трансплантата и отсутствие расстройств системной гемодинамики (постперфузионной сосудистой недостаточности).

Рис. 1. **Методика постановки эпидурального катетера**

Показаниями для начала активизации в условиях операционной после ОТС считали:

- АД среднее > 60 мм рт. ст., ДПП < 14 мм рт. ст., ЗДЛА < 15 мм рт. ст., СИ > 2,8 л/мин/м^2;
- кардиотоническую терапию: допамин и/или добутамин (< 7,5 мкг/кг/мин) без или в комбинации с адреналином (< 50 нг/кг/мин);
- температуру тела 36,5–37,0°;
- темп отделяемого по страховочным дренажам < 150 мл/ч;
- отсутствие зависимости гемодинамики малого круга и насосной функции правого желудочка от ингаляционного оксида азота иNO);
- Hb > 8,5 г/л, об. белок > 60,0 г/л;
- $PaCO_2$ < 40 мм рт. ст., PaO_2/FiO_2 > 300 мм рт. ст. при ИВЛ в режиме контролируемой по объему со следующими параметрами: ДО 8–10 мл/кг, ПДКВ 5 см вод. ст., ЧД < 12 в мин, FiO_2 < 0,5; P peak (или наибольшее) < 25 см вод. ст.;
- pHa 7,35–7,45, BEa > – 2,5 ммоль/л, лактат крови < 5 ммоль/л.

Критериями включения в контрольную группу являлись:

- возраст от 18 до 50 лет;
- предтрансплантационная легочная гипертензия IA или IБ степени по классификации НИИТиИО;
- неотложность выполнения ОТС – статус II или 1Б по UNOS;
- предтрансплантационные значения Hb > 12 г/л, общий белок > 60 г/л, тромбоциты > 150 × 10^9/л, общий билирубин < 40 мкмоль/л, АЛТ/АСТ < 80 Ед./л, мочевина < 10 ммоль/л, креатинин < 150 мкмоль/л, протромбиновый индекс > 60%, МНО < 1,5, Na^+ > 130 ммоль/л, pHa > 7,30; BEa > –4,0 ммоль/л, лактат < 4 ммоль/л, $PaCO_2$ < 45 мм рт. ст. (после индукции на фоне стандартных ре-

жимов ИВЛ), PaO_2/FiO_2 > 300 мм рт. ст. (после индукции на фоне стандартных режимов ИВЛ);
- отсутствие значимых нарушений насосной функции сердечного трансплантата на момент окончания операции: ДПП < 12 мм рт. ст., ЗДЛА < 15 мм рт. ст., СИ > 2,7 л/мин/м^2, адреналин < 100 нг/кг/мин, добутамин и/или допамин < 15 мкг/кг/мин;
- отсутствие применения левосимендана с целью стабилизации насосной функции сердечного трансплантата;
- отсутствие механической поддержки кровообращения в раннем посттрансплантационном периоде;
- отсутствие значимой интра- и ранней послеоперационной кровопотери;
- отсутствие гемолиза;
- отсутствие применения экстракорпоральных методов детоксикации (заместительной почечной терапии, плазмафереза, селективной гемадсорбции);
- отсутствие значимых проявлений синдрома полиорганной недостаточности (менее 6 баллов по шкале SOFA).

Статистическая обработка

Статистическую обработку данных исследования выполняли с помощью электронных таблиц «Microsoft Exel» и пакета прикладных программ Statistica for Windows 7.0 (Start Soft Inc. США) при помощи стандартных методов статистического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из 184 в исследование были включены 179 реципиентов: с ранней послеоперационной активизацией (n = 101) и пациенты с продленной послеоперационной ИВЛ (n = 78). 5 реципиентов были исключены из исследования в связи летальным исходом на операционном столе.

В зависимости от цели исследований все обследованные реципиенты сердца (n = 179) были разделены на 3 клинические группы:

1-я группа (основная) – реципиенты, у которых была выполнена ранняя (на операционном столе) активизация после ОТС в соответствии с разработанными критериями (n = 101);

2-я группа – реципиенты, у которых не производили раннюю активизацию в связи с наличием противопоказаний к раннему послеоперационному прекращению ИВЛ (n = 42);

3-я группа (контрольная группа, или «историческая» группа) – реципиенты, у которых имелись показания для ранней активизации, но она не производилась в связи с использованием методики продленной ИВЛ в

раннем периоде после ОТС (n = 36). Пациентам этой группы ОТС была выполнена в период, предшествовавший началу реализации программы ранней активизации реципиентов сердца.

Для выявления особенностей течения интра- и раннего послеоперационного периода у реципиентов с ранней активизацией после ОТС провели сравнительный анализ с контрольной группой реципиентов (n = 36), которым была выполнена трансплантация сердца до начала реализации программы ранней активизации.

Для прогнозирования возможности выполнения ранней активизации после ОТС был проведен сравнительный анализ течения пред-, интра- и раннего послеоперационного периода у реципиентов сердца (n = 101), активизированных в условиях операционной, у реципиентов с продленной (более 6 ч) послеоперационной ИВЛ (n = 42), и у реципиентов сердца контрольной – «исторической» группы (n = 36).

При межгрупповом анализе предтрансплантационного статуса не выявили достоверного различия между группами в возрасте, весе, индексе массы тела.

Дотрансплантационное инвазивное исследование центральной гемодинамики выявило, что реципиенты, у которых была впоследствии выполнена ранняя активизация после ОТС, имели менее выраженные нарушения ($p < 0,05$) насосной функции собственного сердца (СИ, ИУО, ИУРЛЖ) и менее выраженные ($p < 0,05$) предтрансплантационную ЛГ (ДЛА, ТПГ, ОЛСС) (табл. 1).

Учитывая, что в группе отсроченной послеоперационной активизации около половины (42,6%) реципиентов находились на механической поддержке кровообращения, для анализа предтрансплантационного состояния ЦГД использовали данные, полученные перед началом вспомогательного кровообращения. В группе «отсроченная послеоперационная активизация» в 42,5% в предтрансплантационном периоде потребовалось применение временной (ВАБК, ВА ЭКМО) или продолжительной (имплантируемая система осевого левожелудочкового обхода «Incor», паракорпоральный пульсирующий бивентрикулярный обход «Excor») механической поддержки кровообращения (преимущественно ВА ЭКМО – у 14 из 47, или 29,8%), что существенно ($p < 0,05$) превышало аналогичный показатель у пациентов с ранней послеоперационной активизацией.

При сравнительном анализе лабораторного обследования выявили более ($p < 0,05$) низкие значения уровня Hb, эритроцитов, тромбоцитов, общего белка и ПИ у пациентов с отсроченной послеоперационной активизацией. В этой же группе отметили более ($p < 0,05$) высокие значения мочевины, креатинина, об. билирубина, АЛТ и АСТ, что в определенной степени отражало тяжесть предтрансплантационного состояния и выраженность предсуществующих полиорганных нарушений, на что указывал и более ($p < 0,05$) высокий балл по шкале SOFA ($7,1 \pm 0,7$ против $3,7 \pm 0,3$) (рис. 2).

Таблица 1

Дооперационные показатели центральной гемодинамики (M ± m) у реципиентов сердца с разными сроками послеоперационной активизации (n = 143)

Показатель	Ранняя активизация (n = 101)	Отсроченная активизация (n = 42)	
АД ср., мм рт. ст.	77,9 ± 1,6	74,3 ± 2,5	t = 1,24, p = 0,23
ЧСС, 1/мин	85,8 ± 2,0	87,1 ± 2,3	t = 0,39, p = 0,69
ДПП, мм рт. ст.	9,3 ± 0,5	11,7 ± 0,8*	**t = 2,62, p = 0,010**
ДЛА ср., мм рт. ст.	30,5 ± 1,5	36,8 ± 1,4*	**t = 2,63, p = 0,010**
ЗДЛА, мм рт. ст.	20,2 ± 1,6	23,0 ± 1,7	t = 1,07, p = 0,284
ТПГ, мм рт. ст.	10,3 ± 1,1	13,8 ± 1,0*	**t = 2,11, p = 0,048**
СИ, л/мин/м^2	1,84 ± 0,06	1,61 ± 0,05*	**t = 2,44, p = 0,016**
ИУО, мл/м^2	21,4 ± 0,6	18,4 ± 0,4	**t = 3,25, p = 0,001**
ИОЛСС, дин·с·см$^{-5}$·м^2	447 ± 49	685 ± 63*	**t = 2,44, p = 0,016**
ОЛСС, ед. Wood	3,0 ± 0,4	4,8 ± 0,7*	**t = 2,84, p = 0,005**
ИОПСС, дин·с·см$^{-5}$·м^2	2983 ± 125	3110 ± 138	t = 0,62, p = 0,539
ИУРЛЖ, г-м/уд./м^2	16,8 ± 1,0	12,8 ± 1,2*	**t = 2,38, p = 0,019**
ИУРПЖ, г-м/уд./м^2	6,2 ± 0,6	6,3 ± 0,5	t = 0,11, p = 0,916

Примечание. * – достоверность различия (p < 0,05).

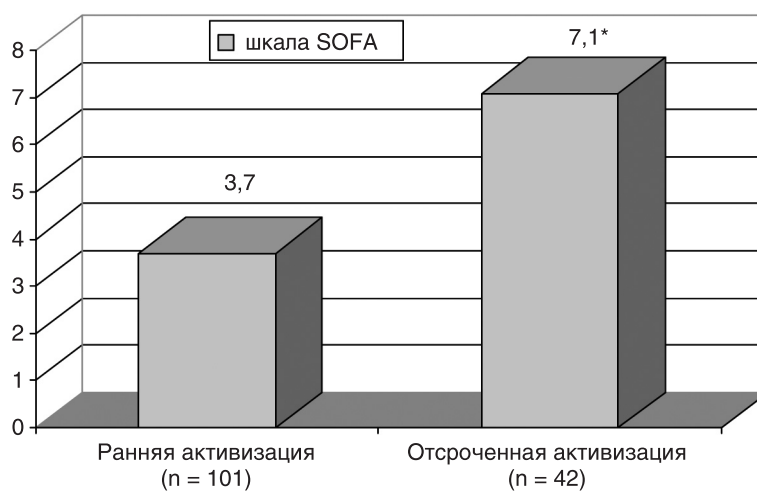


Рис. 2. **Выраженность предтрансплантационных полиорганных расстройств (n = 143). * – достоверность отличия (p < 0,05)**

Во всех наблюдениях ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» проводили дистанционный забор сердечного трансплантата от доноров со смертью мозга в клиниках г. Москвы и Московской области. По продолжительности атонической комы, ИВЛ и кондиционирования сердечного донора пациенты с разными сроками послеоперационной активизации не различались.

В целом средний возраст сердечного донора (n = 143) составил от 18 до 59 (34,3 ± 0,7) лет. В 59 (41,2%) из 143 наблюдений возраст донора превысил 40 лет, в 10 (6,9%) из 143 – 50 лет. В группе активизированных реципиентов (n = 101) средний возраст доноров составил от 18 до 56 (34,3 ± 8,7), в группе пациентов ИВЛ (n = 47) от 19 до 59 (36,8 ± 9,8) лет. При сравнительном анализе в группе с отсроченной активизацией доля реципиентов с сердцем, пересаженным от доноров старше 40 лет, в том числе и старше 50 лет, была больше ($p < 0,05$).

Реципиенты были оперированы в условиях многокомпонентной общей анестезии. Тактика проведения анестезиологического пособия (выбор препаратов и их дозировок) на этапе индукции анестезии и ее поддержания в предперфузионном периоде и во время ИК была ориентирована на возможность раннего послеоперационного пробуждения и прекращения ИВЛ.

В большинстве наблюдений для поддержания анестезии использовали внутривенный анестетик пропофол (постоянное внутривенное введение) в комбинации или без мидазолама (интермиттирующее болюсное введение), наркотический анальгетик фентанил (интермиттирующее болюсное введение) и недеполяризующий миорелаксант (интермиттирующее болюсное введение). Ингаляционные анестетики у данной категории больных не использовали. По частоте назначения и дозировкам препаратов для анестезии в предперфузионном периоде и во время проведения ИК группы не различались. У реципиентов с ранней послеоперационной активизацией введение фентанила ограничивалось предперфузионным и перфузионным периодами. У реципиентов группы отсроченной активизации в постперфузионном периоде требовалось введение дополнительных дозировок пропофола, фентанила и недеполяризующих миорелаксантов (рокурония бромида, цисатракурия бесилата), что привело к увеличению ($p < 0,05$) их суммарного расхода за время оперативного вмешательства (табл. 2).

Исследование показало, что у пациентов с отсроченной послеоперационной активизацией нарушения насосной функции сердечного трансплантата в ранние сроки после операции носили более выраженный характер, на что указывали большие ($p < 0,05$) значения ДПП, ДЛА ср., ЗДЛА, меньшие ($p < 0,05$) значения СИ, ИУО, ИУРПЖ и ИУРЛЖ и более ($p < 0,05$) высокие дозировки симпатомиметических препаратов (допамин и/или добутамин и/или адреналин) (табл. 3).

Таблица 2

Расход препаратов (M ± m) для анестезии у реципиентов сердца с разными сроками послеоперационной активизации (n = 143)

Препарат	Ранняя активизация (n = 101)	Отсроченная активизация (n = 42)	
Пропофол, мг/кг/ч	2,2 ± 0,4	3,8 ± 0,2*	t = –2,379, p = 0,019
Фентанил, мкг/кг	17,9 ± 0,6	25,2 ± 0,2*	t = –7,756, p < 0,001
Рокурония бромид, мг/кг	1,7 ± 0,3	2,6 ± 0,22*	t = –1,861, p = 0,065
Цисатракурия бесилат, мг/кг	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,3	t = –0,274, p = 0,785

Примечание. * – достоверность отличия (p < 0,05).

Таблица 3

Показатели гемодинамики (M ± m) в постперфузионном периоде у реципиентов с разным сроком послеоперационной активизации (n = 124)

Этапы операции / Параметры	Окончание ИК	Гемостаз	Сведение грудины	Послойное ушивание	Конец операции
АД ср., мм рт. ст.					
А (n = 101)	76 ± 3*	73 ± 4	74 ± 2*	74 ± 3*	77 ± 3*
Б(n = 23)	60 ± 2	62 ± 2	63 ± 3	62 ± 3	63 ± 2
ЧСС, 1/мин					
А (n = 101)	117 ± 3	117 ± 4	116 ± 5	118 ± 6	116 ± 3
Б (n = 23)	114 ± 1	113 ± 2	113 ± 2	116 ± 4	114 ± 2
ДПП, мм рт. ст.					
А (n = 101)	8,8 ± 0,6*	9,1 ± 0,4*	8,9 ± 0,4*	9,1 ± 0,6*	9,3 ± 0,6*
Б (n = 23)	11,9 ± 0,8	12,2 ± 0,7	12,6 ± 0,5	12,8 ± 0,7	12,9 ± 0,6
ДЛАср., мм рт. ст.					
А (n = 101)	22,7 ± 1,3	22,1 ± 1,4	23,2 ± 1,3	20,2 ± 1,3	21,8 ± 1,1
Б (n = 23)	23,1 ± 1,0	24,3 ± 0,5	26,5 ± 0,5	25,5 ± 0,6*	26,8 ± 0,5
ЗДЛА, мм рт. ст.					
А (n = 101)	9,3 ± 0,7*	9,2 ± 0,4*	9,7 ± 0,7*	9,4 ± 0,7*	9,5 ± 0,5*
Б (n = 23)	13,7 ± 0,7	13,3 ± 0,8	13,2 ± 0,8	15,2 ± 0,6	15,4 ± 0,6
СИ, л/мин/м^2					
А (n = 101)	2,9 ± 0,2	3,1 ± 0,2	3,8 ± 0,3*#	3,8 ± 0,3*#	3,7 ± 0,3*#
Б (n = 23)	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,2
ИУО, мл/уд./м					
А (n = 101)	24,7 ± 1,1	26,4 ± 1,2	32,7 ± 1,2*#	32,2 ± 1,4*#	31,0 ± 1,2*#
Б (n = 23)	22,8 ± 1,1	23,8 ± 1,1	23,8 ± 1,1	22,4 ± 1,1	23,6 ± 1,1

Окончание табл. 3

Этапы операции / Параметры	Окончание ИК	Гемостаз	Сведение грудины	Послойное ушивание	Конец операции
ОЛСС, ед. Вуда					
А (n = 101)	2,5 ± 0,3	2,2 ± 0,3	1,9 ± 0,1*#	1,5 ± 0,1*#	1,6 ± 0,2#
Б (n = 23)	2,0 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1
ИОЛСС, дин·с·см$^{-5}$·м^2					
А (n = 101)	369 ± 35	332 ± 23	284 ± 20*#	227 ± 20*#	265 ± 21#
Б (n = 23)	289 ± 22	325 ± 22	394 ± 18	316 ± 12	337 ± 22
ИОПСС, дин·с·см$^{-5}$·м^2					
А (n = 101)	1853 ± 160	1649 ± 102	1370 ± 94	1366 ± 110	1504 ± 121
Б (n = 23)	1480 ± 127	1475 ± 118	1493 ± 122	1513 ± 120	1484 ± 120
ИУРЛЖ, г-м/м^2/уд.					
А (n = 101)	22,4 ± 2,2*	22,9 ± 1,0*	28,5 ± 1,2*#	20,4 ± 1,2*#	28,4 ± 1,0*#
Б (n = 23)	14,3 ± 0,9	15,7 ± 1,0	16,1 ± 1,4	14,2 ± 1,0	15,2 ± 0,9
ИУРПЖ, г-м/м^2/уд.					
А (n = 101)	4,6 ± 0,4	4,6 ± 0,6	4,7 ± 0,4*	4,8 ± 0,2*	5,6 ± 0,1*#
Б (n = 23)	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,2	4,4 ± 0,2	3,8 ± 0,2	4,4 ± 0,2

Примечание. * – достоверность отличия ($p < 0,05$) между группами в пределах одного этапа исследования; # – достоверность отличия ($p < 0,05$) по сравнению с этапом «окончание ИК» у пациентов одной из исследуемых групп.

Пациенты с ранним послеоперационным прекращением ИВЛ имели лучшие ($p < 0,05$) показатели газообменной функции легких, транспорта-потребления O_2, кислотно-основного равновесия и лактата крови, Hb и общего белка крови к моменту окончания оперативного вмешательства (табл. 4).

Таблица 4

Показатели (M ± m) газового состава крови и кислотно-основного состояния в интраоперационном периоде у реципиентов с разным сроком послеоперационной активизации (n = 124)

Параметры	Окончание ИК	Гемостаз	Сведение грудины	Конец операции
$PaCO_2$, мм рт. ст.				
А (n = 101)	35,5 ± 1,1*	36,6 ± 1,2	36,2 ± 1,5*	36,4 ± 0,9*
Б (n = 23)	40,5 ± 1,1	40,2 ± 1,5	42,5 ± 1,1	42,2 ± 1,1

Окончание табл. 4

Параметры	Окончание ИК	Гемостаз	Сведение грудины	Конец операции
PaO_2/FiO_2, мм рт. ст.				
А (n = 101)	368 ± 19*	423 ± 24*	438 ± 21*	430 ± 18*
Б (n = 23)	284 ± 17	260 ± 17	280 ± 18	280 ± 19
SaO_2, %				
А (n = 101)	99,6 ± 0,4	99,6 ± 0,5*	99,6 ± 0,5	99,8 ± 0,4
Б (n = 23)	99,2 ± 0,5	97,4 ± 0,4	97,6 ± 0,6	98,2 ± 0,3
PvO_2, мм рт. ст.				
А (n = 101)	32,6 ± 1,7*	38,6 ± 0,9*	40,3 ± 1,4*	41,6 ± 1,5*
Б (n = 23)	24,4 ± 1,4	26,8 ± 1,2	28,6 ± 1,3	30,2 ± 1,6
SvO_2, %				
А (n = 101)	59,0 ± 1,5*	65,9 ± 1,7*	69,0 ± 1,5*	71,4 ± 1,1*
Б (n = 23)	44,4 ± 1,2	56,6 ± 1,1	54,2 ± 1,2	52,4 ± 1,2
$ИТО_2$, мл/мин/м^2				
А (n = 101)	450 ± 10*	436 ± 8*	468 ± 14*	480 ± 10*
Б (n = 23)	326 ± 9	340 ± 12	346 ± 10	360 ± 14
$ИПО_2$, мл/мин/м				
А (n = 101)	139 ± 4*	152 ± 2*	150 ± 3*	158 ± 10*
Б (n = 23)	116 ± 2	118 ± 3	122 ± 6	116 ± 4
pHa				
А (n = 101)	7,44 ± 0,03*	7,46 ± 0,02*	7,42 ± 0,02*	7,44 ± 0,02*
Б (n = 23)	7,28 ± 0,06	7,35 ± 0,04	7,30 ± 0,04	7,32 ± 0,02
BEa, ммоль/л				
А (n = 101)	–2,1 ± 0,4*	–2,2 ± 0,5*	–1,8 ± 0,2*	–1,4 ± 0,4*
Б (n = 23)	–5,3 ± 0,3	–4,6 ± 0,4	–4,8 ± 0,3	–3,9 ± 0,2
Лактат, ммоль/л				
А (n = 101)	4,2 ± 0,6*	4,2 ± 0,4*	4,4 ± 0,2*	4,2 ± 0,3*
Б (n = 23)	6,8 ± 0,8	6,6 ± 0,2	5,9 ± 0,4	7,4 ± 0,5
Hb, г/л				
А (n = 101)	8,9 ± 0,4*	9,2 ± 0,4*	9,9 ± 0,5	9,8 ± 0,2*
Б (n = 23)	7,2 ± 0,4	7,2 ± 0,5	8,5 ± 0,6	8,2 ± 0,2
Общий белок, г/л РА				
А (n = 101)	68,7 ± 2,4*	67,6 ± 1,2*	68,2 ± 1,5*	68,4 ± 1,2*
Б (n = 23)	56,5 ± 1,1	56,2 ± 1,5	60,5 ± 1,1	60,2 ± 1,1
K^+, ммоль/л				
А (n = 101)	3,4 ± 0,8	3,6 ± 0,4	3,6 ± 0,4	3,4 ± 0,9
Б (n = 23)	3,2 ± 0,6	3,0 ± 0,8	3,0 ± 0,2	3,0 ± 0,2
Na^+, ммоль/л				
А (n = 101)	140 ± 1,2*	139 ± 1,2*	139 ± 1,5*	136 ± 1,2
Б (n = 23)	135 ± 1,1	132 ± 1,5	132 ± 1,1	134 ± 1,1

Примечание. * – достоверность отличия ($p < 0,05$) между группами в пределах одного этапа исследования.

Принципиальными предпосылками для выполнения ранней активизации у реципиентов сердца является стабильное предтрансплантационное клиническое состояние, удовлетворительная начальная функция сердечного трансплантата, отсутствие потребности в механической поддержке кровообращения до и после трансплантации, приемлемые показатели центральной гемодинамики и гомеостаза в целом на основных этапах оперативного вмешательства, отсутствие значимой кровопотери и других факторов, осложняющих течение периоперационного периода и делающих нецелесообразным раннее прекращение ИВЛ после трансплантации сердца. Разработанная схема анестезиологического пособия при отсутствии противопоказаний делает возможным раннее пробуждение реципиентов после трансплантации сердца.

Для выявления возможного положительного или негативного влияния ранней послеоперационной активизации был проведен сравнительный анализ течения послеоперационного периода у реципиентов ранней активизации (послеоперационная ИВЛ менее 2 ч) и реципиентов контрольной группы (послеоперационная ИВЛ > 6 ч).

При анализе раннего посттрансплантационного периода выявили, что достоверного различия по значениям показателей насосной функции сердечного трансплантата (СИ, ИУО), системной и легочной гемодинамики, качественному составу и дозировкам симпатомиметических препаратов (допамин, добутамин и/или адреналин) на момент окончания ИК и оперативного вмешательства группы не различались. Реципиенты сердца с ранней послеоперационной активизацией на этапе 3 ч после окончания операции имели более высокие ($p < 0,05$) значения АДср., СИ, ИУО, ФИ ПЖ и более низкие ($p < 0,05$) значения ДПП, ДЛА, ЗДЛА, ОЛСС, ИКДОПЖ при меньшей напряженности симпатомиметической терапии, что отражало лучшее состояние системной и центральной гемодинамики, насосной функции сердечного трансплантата, и в частности его правого желудочка.

Выявленные различия между реципиентами с ранней и отсроченной послеоперационной активизацией сохранялись по отдельным показателям на период от 3 до 6 ч (ДЛАср.), до 12 ч (ЗДЛА, СИ, ОЛСС), до 24 ч (АДср., ИКДОПЖ), до 3 сут (ИУО), до 4 сут (ДПП, ФИ ПЖ) после окончания операции.

При анализе состава и дозировок симпатомиметической терапии отметили, что у реципиентов сердца с ранней послеоперационной активизацией частота сочетанного применения допамина и добутамина была меньше ($p < 0,05$), при этом на всех этапах исследования после перевода на самостоятельное дыхание дозировки допамина, добутамина и адреналина, а также значение инотропного индекса были ниже ($p < 0,05$).

У реципиентов сердца с ранней послеоперационной активизацией показатели газового состава артериальной и венозной крови ($p < 0,05$)

($PaCO_2$, PaO_2/FiO_2, SaO_2, PvO_2, SvO_2), в том числе отражающие состояние оксигенирующей и вентиляционной функции легких, а также показатели транспорта-потребления O_2 ($ИТО_2$, $ИПО_2$), кислотно-основного состояния (pHa, BEa), уровень лактата крови были лучше практически на всех исследуемых этапах послеоперационного периода. В частности, различие по величине PaO_2/FiO_2 отметили в интервале от 3 ч до 5 сут после окончания оперативного вмешательства, SaO_2 – от 6 до 24 ч, PvO_2 и SvO_2 – от 3 ч до 4 сут, $ИТО_2$ – от 6 ч до 5 сут, $ИПО_2$ – от 3 ч до 5 сут, pHa – от 3 до 12 ч, BEa – от 6 ч до 2 сут.

В раннем послеоперационном периоде достоверного различия по динамике изменений показателей общего анализа крови, биохимического состава крови, в том числе характеризующих органную функцию (о. билирубин, АЛТ, АСТ, креатинин, мочевина), а также выраженность органной дисфункции, оцененной в баллах по шкале SOFA, между группами пациентов с различными сроками послеоперационной активизации получено не было.

Все пациенты (n = 101, 100%) с ранним послеоперационным прекращением ИВЛ были активизированы на операционном столе. Продолжительность послеоперационной ИВЛ у пациентов с ранней активизацией составила 43 ± 8 мин, при этом у 22 из 101 (21,8%) экстубацию трахеи выполнили в пределах 10 мин после окончания оперативного вмешательства. При этом ни у одного из пациентов не отмечено проявлений постэкстубационной дыхательной недостаточности, потребности во вспомогательной неинвазивной вентиляции легких и/или повторной интубации трахеи. При рентгенологическом исследовании органов грудной клетки клинических значимых изменений легких (дисковидные или более обширные ателектазы, участки воспалительной инфильтрации и т. п.) в постэкстубационном периоде выявлено не было. Независимо от сроков послеоперационной активизации у большинства реципиентов сердца с целью профилактики постэкстубационных нарушений газообменной функции легких и развития воспалительных изменений легочной паренхимы проводились сеансы самостоятельной побудительной спирометрии.

У реципиентов контрольной (исторической) группы продолжительность послеоперационной ИВЛ составила 18,2 ± 0,6 ч.

В обеих группах реципиентов в послеоперационном периоде не выявили развития клинически значимых осложнений инфекционных осложнений, включая раневую инфекцию.

Продолжительность послеоперационного лечения в условиях ОРИТ, применения сипатомиметической поддержки насосной функции сердечного трансплантата, послеоперационного лечения в стационаре была меньше ($p < 0,05$) у реципиентов с ранней послеоперационной активизацией (табл. 5).

Таблица 5

Продолжительность ОРИТ в группе активизированных пациентов по сравнению с группой пациентов с ИВЛ (n = 137)

	n = 101	n = 36	
Послеоперационное лечение в ОРИТ (сут)	3,5 ± 0,3	5,2 ± 0,2	t = –3,285, p = 0,001
Послеоперационная кардиотоническая терапия (сут)	6,3 ± 0,7	9,2 ± 0,4	t = –2,419, p = 0,01
Послеоперационное лечение в условиях стационара (сут)	19,2 ± 1,1	25,6 ± 1,5	t = –3,308, p = 0,02

Таким образом, данное исследование показало, что ранняя активизация после трансплантации сердца может рассматриваться в качестве возможного варианта послеоперационного ведения реципиентов. Раннее прекращение ИВЛ у реципиентов сердца благоприятно сказывается на состоянии системной и легочной гемодинамики, насосной функции сердечного трансплантата, и в частности его правого желудочка, на транспорте-потреблении O_2, кислотно-основном состоянии, а также способствует уменьшению продолжительности послеоперационной медикаментозной поддержки сердечного трансплантата и сокращению сроков послеоперационного лечения в условиях ОРИТ и стационаре. При строгом соблюдении разработанного протокола ранняя активизация не сопровождается развитием постэкстубационных расстройств газообменной функции легких, обусловленных бронхо-пульмональными осложнениями.

С целью выяснения эффективности и безопасности использования метода высокой грудной эпидуральной анестезии (ВГЭА) провели сравнительный анализ течения пред-, интра- и раннего послеоперационного периода у реципиентов сердца (n = 23), у которых использовали ВГЭА в соответствии с разработанными критериями, и у реципиентов (n = 20) контрольной («исторической») группы, у которых имелись показания для ВГЭА, но она не проводилась. У реципиентов сердца, включенных в «историческую» группу, использовали схему послеоперационного обезболивания, основанную на использовании наркотических анальгетиков. У данной категории реципиентов трансплантация была выполнена в период, предшествующий началу реализации программы применения ВГЭА при пересадке сердца. При анализе предтрансплантационных факторов не выявили различий по демографическим характеристикам и исходному клиническому статусу.

У всех реципиентов (n = 23) в соответствии с разработанными показаниями введение 0,2% раствора ропивакаина начинали непосредственно после сведения грудины с целью проявления его обезболивающего эффекта к моменту окончания оперативного вмешательства и начала пробужде-

ния. Во всех наблюдениях после введения в эпидуральное пространство тест-дозы (3 мл 0,2% раствора лидокаина) и при отсутствии клинических признаков попадания раствора местного анестетика в субарахноидальное пространство или внутрь сосуда осуществляли болюсное введение нагрузочной дозы 5–10 (8,1 ± 0,4) мл с последующим введением препарата методом непрерывной инфузии со скоростью 4–12 (6,9 ± 0,8) мл/ч. Продолжительность введения 0,2% раствора ропивакаина составила 67 ± 3 ч, суммарный расход местного анестетика (нагрузочная доза + непрерывное введение) – 483 ± 16 мл.

Учитывая, что длительность нахождения реципиентов сердца с ВГЭА в ОРИТ после трансплантации сердца в среднем составила менее 3 (2,8 ± 0,2) сут, то для выявления особенностей влияния эпидуральной анальгезии на течение раннего посттрансплантационного периода провели сравнительный анализ первых 3 суток после операции.

По сравнению с реципиентами контрольной группы по значениям ЧСС и СИ достоверного различия выявлено не было. На исследуемых этапах в группе реципиентов с ВГЭА отметили клинически незначимое снижение ($p < 0,05$) АД ср. и ИОПСС, которое не сопровождалось увеличением дозировок симпатомиметических препаратов с целью повышения тонуса сосудов большого круга кровообращения.

В послеоперационном периоде реципиенты из группы ВГЭА были активизированы быстрее, интервал между окончанием оперативного вмешательства и экстубацией трахеи был короче ($p < 0,05$) (15 ± 3 мин) по сравнению с реципиентами контрольной группы (43 ± 8 мин) ($p = 0,01$).

При ежедневном исследовании показателей функции внешнего дыхания (ФВД) у реципиентов группы ВГЭА отметили увеличение ($p < 0,05$) жизненной емкости легких, форсированной жизненной емкости легких, объема форсированного выдоха за 1-ю секунду и индекса Генслера (табл. 6).

При сравнительном анализе выявили, что отношение PaO_2/FiO_2 было выше ($p < 0,05$), а уровень $PaCO_2$ – ниже у реципиентов с ВГЭА, что указывало на лучшее функциональное состояние легких.

В группе ВГЭА не наблюдали осложнений, связанных с выполнением катетеризации эпидурального пространства и последующим введением местного анестетика (ропивакаина). Продолжительность пребывания в ОРИТ (2,8 ± 0,2 сут) в группе ВГЭА была короче ($p < 0,05$) по сравнению с реципиентами контрольной группы (3,5 ± 0,2 сут).

Целью применения сугаммадекса как фармакологического препарата, обеспечивающего быструю реверсию нервно-мышечного блока при применении недеполяризующих миорелаксантов, было сокращение временного интервала между окончанием оперативного вмешательства и экстубацией трахеи. Сугаммадекс применили у 27 (26,7%) из 101 реципиента сердца, у которых была выполнена ранняя активизация в условиях операционной.

Таблица 6

Результаты (M ± m) спирометрического исследования функции внешнего дыхания, дыхательные объемы в раннем посттрансплантационном периоде у обследованных реципиентов сердца (n = 43)

Показатель	До операции	После экстубации трахеи			
		6 ч	24 ч	2 сут	3 сут
ЖЕЛ (%)					
А(n = 23)	85,2 ± 15	23,2 ± 5*	30 ± 12*	36,04 ± 8*	42,05 ± 9*
Б (n = 20)	83,2 ± 13	16,2 ± 5	23,4 ± 5,2	29,4 ± 6	36 ± 7
ФЖЕЛ (%)					
А(n = 23)	85,0 ± 14	24,78 ± 5*	35,2 ± 6*	38,2 ± 8*	45,2 ± 10*
Б (n = 20)	84,9 ± 14	18,2 ± 4	28,2 ± 5	30,2 ± 5	36,32 ± 6
ОФВ 1 (%)					
А(n = 23)	90,9 ± 17	27,8 ± 6*	33,8 ± 8*	42,2 ± 9*	50,2 ± 11*
Б (n = 20)	90,2 ± 16	19,2 ± 6	25,8 ± 5	34,3 ± 5	43,6 ± 8
ОФВ 1 / ФЖЕЛ					
А(n = 23)	104,1 ± 12	120 ± 2*	122 ± 4*	120 ± 2*	124 ± 4*
Б (n = 20)	106,2 ± 8	104 ± 8	102 ± 6	104 ± 6	104 ± 2

Примечание. А – ВГЭА+ ранняя активизация, Б – ранняя активизация без ВГЭА; * – достоверность отличия $p < 0,05$. Показатели рассчитаны в соответствии с возрастом, полом, антропометрическими данными. ЖЕЛ – жизненная емкость легких, ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких, ОФВ 1 – объем форсированного выдоха за 1-ю сек, ОФВ 1 / ФЖЕЛ – отношение показателей – индекс Генслера.

Введение сугаммадекса в дозировке 1 мг/кг в 100% наблюдений обеспечило быстрое восстановление мышечного тонуса до уровня, достаточного для выполнения экстубации трахеи.

Ни в одном из случаев после перевода пациентов на самостоятельное дыхание не выявили клинических проявлений возврата миоплегии. Проведенный анализ показал, что интервал между окончанием оперативного вмешательства и экстубацией трахеи у реципиентов сердца с реверсией нейромышечного блока с помощью сугаммадекса был короче ($p < 0,05$) по сравнению с реципиентами, активизированными в условиях операционной без применения данного препарата – 43 ± 8 против 21 ± 6 мин.

Применение высокой грудной анальгезии с помощью местного анестетика ропивакаина при наличии соответствующих гемодинамических показаний обеспечивает сокращение сроков послеоперационной активизации реципиентов сердца, способствует улучшению газообменной функции легких и показателей функции внешнего дыхания при отсутствии отрицательного влияния на показатели системной гемодинамики и насосную функцию сердечного трансплантата. Использование сугамма-

декса для фармакологической реверсии нейромышечного блока, вызванного применением недеполяризующих миорелаксантов, можно рассматривать в качестве высокоэффективной меры необратимого устранения миоплегии и укорочения сроков послеоперационной активизации у реципиентов сердца.

ВЫВОДЫ

1. Принципиальными факторами для успешного выполнения ранней активизации у реципиентов сердца являются: стабильное предтрансплантационное клиническое состояние, удовлетворительная начальная функция сердечного трансплантата, отсутствие потребности в механической поддержке кровообращения до и после трансплантации, приемлемые показатели системной и легочной гемодинамики и гомеостаза в целом на основных этапах оперативного вмешательства, отсутствие значимой кровопотери и других факторов, осложняющих течение периоперационного периода и делающих нецелесообразным раннее прекращение искусственной вентиляции легких после трансплантации сердца.
2. Раннее прекращение ИВЛ у реципиентов сердца благоприятно сказывается на состоянии системной и легочной гемодинамики, насосной функции сердечного трансплантата, и в частности его правого желудочка, на транспорте-потреблении O_2, кислотно-основном состоянии, а также сопровождается уменьшением продолжительности кардиотонической поддержки сердечного трансплантата и сокращением сроков послеоперационного лечения в условиях ОРИТ и стационара.
3. При строгом соблюдении разработанного протокола ранняя активизация не сопровождается развитием постэкстубационных расстройств газообменной функции легких, обусловленных бронхопульмональными осложнениями.
4. Применение высокой грудной анальгезии с помощью местного анестетика ропивакаина и использование сугаммадекса для фармакологической реверсии нервно-мышечного блока в 2–3 раза сокращает сроки активизации после трансплантации сердца.
5. Проведение ранней активизации согласно разработанному протоколу позволило у 70% реципиентов сердца выполнить экстубацию трахеи на операционном столе с учетом предосторожностей и противопоказаний, принятых для операций, выполняемых в условиях искусственного кровообращения, а также выявленных факторов, ограничивающих раннее прекращение послеоперационной искусственной вентиляции легких у данной категории реципиентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для сокращения сроков посттрансплантационного лечения в условиях ОРИТ и в стационаре и улучшения послеоперационной реабилитации целесообразно использовать тактику ранней активизации реципиентов после трансплантации сердца.
2. Стабильное предтрансплантационноее клиническое состояние реципиентов и наличие удовлетворительной начальной функции сердечного трансплантата следует рассматривать в качестве основных критериев для возможного выполнения ранней активизации после пересадки сердца.
3. Наличие потребности в механической поддержке кровообращения до или после трансплантации сердца или высокой кардиотонической терапии с целью стабилизации насосной функции сердечного трансплантата делает нецелесообразным выполнение ранней активизации.
4. Проведение ранней активизации у реципиентов сердца необходимо осуществлять под строгим контролем параметров системной и легочной гемодинамики, газового состава и кислотно-основного состояния крови и других показателей метаболизма.
5. Критерии, разработанные для проведения ранней активизации кардиохирургических больных после операций, выполненных в условиях искусственного кровообращения, применимы и к реципиентам сердца при учете характера восстановления насосной функции пересаженного сердца в ранние сроки после трансплантации.
6. Гемодинамическими показаниями для ранней послеоперационной активизации, специфичными для реципиентов сердца, следует считать: АД среднее > 60 мм рт. ст., ДПП < 14 мм рт. ст., ЗДЛА < 15 мм рт. ст., СИ > 2,8 л/мин/м на фоне применения допамина и/или добутамина (<7,5 мкг/кг/мин) без или в комбинации с адреналином (<50 нг/кг/мин).
7. Для укорочения сроков проведения послеоперационной искусственной вентиляции легких у реципиентов сердца рекомендуется использовать высокую грудную эпидуральную анальгезию ропивакаином и применение сугаммадекса с целью реверсии нейромышечного блока.
8. Гемодинамическими критериями для возможного применения высокой грудной эпидуральной анальгезии после трансплантации сердца следует считать: АД среднее > 75 мм рт. ст., ДПП 8–12 мм рт. ст., ЗДЛА 8–14 мм рт. ст., СИ > 3,0 л/мин/м^2, ИОПСС > 1800 дин·с·см$^{-5}$·м^2 на фоне применения допамина и/или добутамина < 7,5 мкг/кг/мин, без или в комбинации с адреналином (<50 нг/кг/мин).
9. Использование сугаммадекса в дозировке 1 мг/кг обеспечивает необратимую реверсию нейромышечного блока у реципиентов сердца.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Попцов В.Н., Магилевец А.И., Пчельников В.В.,* ***Спирина Е.А.****, Воронина О.В.* Ранняя активизация при ортотопической трансплантации сердца // Материалы XI сессии Московского научного общества анестезиологов-реаниматологов. – 2010. – С. 35.
2. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.****, Магилевец А.И., Пчельников В.В., Воронина О.В., Ухренков С.Г.* Ранняя активизация больных при ортотопической трансплантации сердца // Анестезиология и реаниматология. – 2010. – № 5. – С. 14–18.
3. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.****, Воронина О.В., Ухренков С.Г., Магилевец А.И., Пчельников В.В.* Ранняя активизация при ортотопической трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов: Материалы V Всероссийского съезда трансплантологов. Москва, 8–10 октября 2010 г. – М., 2010. – С. 218.
4. *Попцов В.Н., Магилевец А.И., Пчельников В.В.,* ***Спирина Е.А.****, Воронина О.В., Ухренков С.Г.* Опыт ранней активизации в условиях операционной после ортотопической трансплантации сердца // 14-я ежегодная сессия научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых. Москва, 16–18 мая 2010 г. – С. 106.
5. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.*** Оптимизация ведения реципиентов сердца в раннем посттрансплантационном периоде (опыт ранней активизации) // Материалы XII сессии МНОАР. – 25 марта 2011. – С. 35.
6. *Попцов В.Н., Воронина О.В.,* ***Спирина Е.А.****, Ухренков С.Г.* Оптимизация анестезиологического обеспечения и интенсивной терапии при трансплантации сердца // IV международная конференция «Проблемы безопасности в анестезиологии». Москва, 4–5 октября 2011 г. – С. 46–49.
7. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.*** Оптимизация тактики ведения реципиентов в раннем периоде после ортотопической трансплантации сердца // IV международная конференция «Проблемы безопасности в анестезиологии». Москва, 4–5 октября 2011 г. – С. 52–53.
8. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.*** Оптимизация тактики ведения реципиентов в раннем периоде после ортотопической трансплантации сердца // Эфферентная терапия. – 2011. – Т. 17. – № 3. – С. 122–124.
9. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.*** Оптимизация тактики ведения реципиентов в раннем периоде после ортотопической трансплантации сердца // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. – 2011. – Т. 12. – № 6. – С. 195.
10. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.,*** *Родионова Т.Ю., Виноградова О.Ю., Потапенко И.Д.* Опыт применения высокой грудной эпидуральной анальгезии как компонента интра- и послеоперационного обезболивания при трансплантации сердца // Материалы XII сессии Московского научного общества анестезиологов-реаниматологов. – М., 2012. – С. 29.
11. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.*** Совершенстование тактики ведения реципиентов в раннем периоде после ортотопической трансплантации сердца // Мате-

риалы VI Всероссийского съезда трансплантологов. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012, приложение. – С. 240–241.

12. *Попцов В.Н.,* ***Спирина Е.А.*** Применение высокой грудной эпидуральной анальгезии при трансплантации сердца // Материалы VI Всероссийского съезда трансплантологов. – Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012, приложение. – С. 242.
13. *Poptsov V.N.,* ***Spirina E.A.,*** *Voronina O.V., Uchrenkov S.G., Magilevetch A.I.* A practical approach of early extubation after heart transplantation // Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg. – 2011. – Vol. 12 (suppl 1). – S. 68.
14. *Poptsov V.N.* ***Spirina E.A.,*** *Pchelnikov V.V., Uchrenkov S.G., Potapenko I.D., Ilinskiy V.* Early extubation in operating room after heart transplantation // Applied Cardiopulmonary Pathophysiology. – 2012. – Vol. 16, suppl. I. – P. 178–179.

Сушков Александр Игоревич

АВ0-НЕСОВМЕСТИМАЯ РОДСТВЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПОЧКИ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

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

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор **Мойсюк Ян Геннадиевич**

Актуальность темы

Количество пациентов с хронической почечной недостаточностью в терминальной стадии, нуждающихся в заместительной почечной терапии, ежегодно увеличивается. Так, по данным United States Renal Data System Annual Report 2013, в США на конец 2011 года 615 899 пациентов получали ЗПТ, из них около 30% жили с функционирующим почечным трансплантатом [SYSTEM U.S.R.D. 2013 Annual Data Report, http://www.usrds.org/atlas.aspx, 2013]. В странах Европы, включая Российскую Федерацию, распространенность ХБП ТС, требующей ЗПТ, в 2008 г. составила 128 случаев на 1 млн населения [Stel V.S., 2011]. По данным Отчета Российского регистра заместительной почечной терапии за 1998–2009 гг., потребность в ЗПТ среди россиян увеличилась в 3 раза: с 55,8 пациента на 1 млн населения в 1998 г. до 170,5 пациента на 1 млн населения в 2009 г. При этом за тот же период увеличилось количество пациентов, живущих с функционирующим почечным трансплантатом, с 2064 до 5230 человек. Однако доля трансплантации почки как метода ЗПТ в нашей стране по-прежнему не превышает 25% [Бикбов Б.Т., Томилина Н.А., 2011; Бикбов Б.Т., Томилина Н.А., 2014]. При этом доля трансплантаций

почки от живого донора в Российской Федерации не превышает 20% [Готье С.В., 2014].

Таким образом, в современных условиях преодоление барьера несовместимости по группе крови является перспективным подходом к интенсификации прижизненного донорства, увеличению количества и доступности трансплантаций почки для большого количества пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности.

Цель исследования: обосновать целесообразность выполнения АВ0-несовместимых трансплантаций почки от живого родственного донора в клинической практике.

Задачи исследования

1. Разработать персонализированный протокол подготовки реципиента к АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки.
2. Оценить клиническую безопасность и эффективность разработанного протокола.
3. Изучить динамику показателей гуморального звена иммунитета реципиента до и после АВ0-несовместимой трансплантации почки от живого родственного донора.
4. Определить особенности восстановления функции АВ0-несовместимых трансплантатов.
5. Провести сравнение непосредственных и отдаленных результатов АВ0-несовместимых трансплантаций почки от родственного донора с результатами совместимых по группе крови трансплантаций почки от родственного и трупного донора.

Научная новизна исследования

Впервые проведен анализ непосредственных и отдаленных результатов родственной АВ0-несовместимой трансплантации почки. Выполнено сопоставление с результатами совместимых по группе крови трансплантаций почки от живого и трупного донора. Разработан собственный, персонализированный протокол подготовки реципиента к не совместимой по группе крови родственной трансплантации почки. Проведена оценка безопасности и эффективности разработанного протокола. Определены особенности динамики уровня анти-А/В антител в течение подготовки, а также в послеоперационном периоде. Систематизированы результаты морфологических методов диагностики острого отторжения, выявлены особенности, характерные для АВ0-несовместимых трансплантаций. Показана связь между динамикой сывороточного креатинина в послеоперационном периоде и исходным уровнем анти-А/В антител. На основании проведенных исследований установлено, что результаты АВ0-несовместимых трансплантаций почки от

родственного донора не уступают результатам родственных и трупных пересадок при совместимости или идентичности групп крови донора и реципиента.

Практическая значимость исследования

Разработан и внедрен в клиническую практику алгоритм обследования перед АВ0-несовместимой трансплантацией почки потенциальной пары «донор–реципиент». Предложен собственный, персонализированный протокол десенсибилизации реципиента перед не совместимой по группе крови пересадкой почки. Комплекс разработанных рекомендаций имеет практическую значимость для нефрологов, терапевтов, трансфузиологов и трансплантологов, принимающих участие в проведении родственной трансплантации почки, а также участвующих в ведении пациентов как до, так и после пересадки. Предложенные подходы повышают доступность трансплантаций и способствуют улучшению клинических результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Преодоление барьера групповой несовместимости между живым родственным донором и реципиентом может быть выполнено без дополнительных рисков и с удовлетворительными клиническими результатами, не уступающими результатам трансплантации от трупного донора.
2. Протокол подготовки пациента к не совместимой по группе крови родственной трансплантации почки должен предусматривать возможность индивидуализации исходя из предоперационных факторов риска иммунологических осложнений.
3. Риск ранней утраты трансплантата после АВ0-несовместимой родственной пересадки не выше, чем при АВ0-совместимой родственной трансплантации почки.
4. При не совместимой по группе крови трансплантации не требуется усиления индукционной и поддерживающей иммуносупрессивной терапии.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу:
– хирургического отделения № 1 (трансплантации почки и печени) ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России;
– кафедры трансплантологии и искусственных органов ГОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в планировании исследования, формулировке цели и задач работы, а также в выполнении всех этапов исследования. Совместно с соавторами участвовал в написании и подготовке к публикации научных статей по теме диссертационной работы, проводил сбор данных, их статистическую обработку и анализ.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 18 сентября 2014 г. на конференции научных и клинических подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздрава России.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на VIII конгрессе Международного общества афереза (Internatinal Society for Apheresis, Вена, Австрия, 2011), на VI Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2012), на VIII конференции Российского диализного общества – «Неделя нефрологии в Москве – 2013» (Москва, 2013), на конгрессе Европейского трансплантологического общества (European Society for Organ Transplantation, Вена, Австрия, 2013), на V конференции «Московская трансплантология» (Москва, 2014), VII Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2014), Всемирном трансплантологическом конгрессе (World Transplant Congress, Сан-Франциско, США, 2014).

Публикации

По материалам исследования опубликовано 15 научных работ, из них 4 – в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики пациентов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, 6 выводов, практических рекомендаций и списка используемой литературы, включающего 10 отечественных и 142 зарубежных источника. Работа изложена на 152 страницах машинописного текста, иллюстрирована 23 таблицами и 20 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 412 пациентов в возрасте от 8 до 74 лет, которым в период с 1 января 2011 г. по 1 августа 2014 г. была выполнена изолированная трансплантация почки от живого родственного или умершего донора. Медиана возраста составила 33 года, интерквартильный размах [26; 45]. Пациенты мужского пола составили 53,2%. В 26 случаях была выполнена додиализная трансплантация, остальные реципиенты перед трансплантацией находились на ЗПТ гемо- или перитонеальным диализом от 1 мес. до 15 лет: медиана – 20 мес., интерквартильный размах [6; 48].

Медиана возраста доноров почки составила 45 лет, интерквартильный размах [35; 51], самому младшему донору было 19 лет, самому старшему – 69 лет. 59,8% доноров были мужчинами.

Для проведения анализа результатов трансплантаций пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от совместимости групп крови с донором, а также от типа донора (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациентов на группы

	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Сокращенное обозначение	нАВ0	РТП	ТТП
Количество пациентов	26	158	226
Тип донора	Родственный	Родственный	Трупный
Группы крови донора и реципиента	Несовместимые	Совместимые	Совместимые

Перед выполнением трансплантации и кандидаты, и потенциальные доноры проходили стандартное обследование по общепринятым алгоритмам и правилам, которые соответствовали Национальным клиническим рекомендациям [Национальные клинические рекомендации «Трансплантация почки», «Прижизненное донорство почки», «Посмертное донорство органов», 2014, http://transpl.ru/about_center/rto/].

Иммунологическая несовместимость в группе нАВ0 была обусловлена либо анти-А, либо анти-В антителами. Пересадок почки от донора АВ(IV) группы крови реципиенту 0(I) группы крови не проводили. Сочетания групп крови доноров и реципиентов представлены в табл. 2.

Исследования уровня антигрупповых антител классов IgM и IgG проводили в по следующей схеме: при обследовании на амбулаторном этапе;

Таблица 2

Сочетание групп крови доноров и реципиентов группы нAB0

Несовместимость	Группа крови		n
	Донор	Реципиент	
Анти - А	A(II) A(II) AB(IV)	0(I) B(III) B(III)	8 4 2
Анти - В	B(III) B(III) AB(IV)	0(I) A(II) A(II)	7 2 3

перед началом предоперационной подготовки (до введения ритуксимаба); перед каждым сеансом ПФ или ИА; на следующий день после сеанса ПФ или ИА; за сутки до трансплантации, до введения сывороточного иммуноглобулина; в день трансплантации перед подачей пациента в операционную; через сутки после трансплантации; 2 раза в неделю в течение первого месяца после трансплантации; далее при каждом визите на амбулаторный прием.

Показаниями к внеплановому определению титра антигрупповых антител считали следующее: если в послеоперационном периоде выполнялись сеансы ПФ или ИА, то титр определяли перед каждой процедурой и на следующий день; при росте уровня сывороточного креатинина более чем на 20%; если выполнялась пункционная биопсия трансплантата, то в день биопсии.

Целевым (безопасным) титром анти-А/В антител, который должен быть достигнут в течение предоперационной подготовки, считали 1:8 и для антител класса IgM и класса IgG. В качестве исходной схемы предоперационной подготовки к АВ0-несовместимой трансплантации был выбран протокол, основанный на применении ритуксимаба, селективной иммуноадсорбции анти-А/В антител, сывороточного иммуноглобулина и трехкомпонентной иммуносупрессивной терапии (Так, ММФ, МП).

В ходе исследования протокол подготовки реципиентов модифицировался, при этом сохранялись все основные компоненты исходной схемы: применение ритуксимаба; назначение в предоперационном периоде трехкомпонентной иммуносупрессивной терапии; введение сывороточного иммуноглобулина в высокой дозе; редукция уровня антител с помощью эфферентных методик.

Вариации протокола предоперационной подготовки с учетом особенностей реципиента представлены в табл. 3.

Для элиминации антигрупповых антител использовали ПФ, ИА или сочетание данных методик. При проведении ПФ за одну процедуру удаляли 1,0–1,5 объема циркулирующей плазмы. Возмещение потерь белка

Таблица 3

Модификация протокола подготовки к АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки

Параметр	Модификация протокола
Временной промежуток между введением ритуксимаба и назначением трехкомпонентной иммуносупрессивной терапии	Отсутствует
Метод элиминации антигрупповых антител	ИА, ПФ или сочетание методик
Минимальное количество процедур ИА (ПФ) в предоперационном периоде	При исходном титре анти-А/В антител ≤ 1:8 ИА/ПФ не выполняются. Количество процедур определяется исходя из динамики снижения антигрупповых антител
Доза ритуксимаба	Редукция дозы у пациентов с исходно допустимым или невысоким (не более 1:64) титром анти-А/В антител
Целевая минимальная концентрация такролимуса в течение предоперационной подготовки	6–8 нг/мл
Эфферентные процедуры в послеоперационном периоде	Только при уровне антигрупповых антител более 1:8

проводили СЗП АВ(IV) группы крови и раствором 20% альбумина. При проведении ИА за один сеанс через иммуносорбционную колонку пропускали 1,5–2,0 объема циркулирующей плазмы. Возмещение потерь белка проводили 20% раствором альбумина.

Схема индукционной и поддерживающей иммуносупрессивной терапии была одинаковой у всех реципиентов.

Для постановки диагноза «острое клеточное отторжение» пользовались общепринятой международной классификацией Banff.

При иммуногистохимическом исследовании определяли фиксацию компонента C4d-комплемента в перитубулярных капиллярах.

Распространенность фиксации распределяли по следующим категориям:

– отсутствует;
– очаговая (<25% перитубулярных капилляров);
– диффузная (>50% перитубулярных капилляров).

Диагноз острого гуморального отторжения устанавливали, когда имелось не менее трех из четырех критериев:

– дисфункция трансплантата (рост сывороточного креатинина);
– морфологочиские признаки гуморального отторжения по Banff;

– диффузная фиксация C4d в стенках перитубулярных капилляров
– наличие донор-специфических анти-HLA антител.

Для реципиентов АВ0-несовместимого органа вводили дополнительный критерий:

– титр донор-специфических антигрупповых антител выше 1:8.

Статистические методы

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Для описания количественных признаков использовали медиану, нижний и верхний квартили. Для сравнения количественных признаков во всех случаях пользовались непараметрическим критерием Mann–Whitney; качественные номинальные признаки сравнивали, используя точный двусторонний критерий Фишера. Для оценки риска ранней утраты трансплантата в группах нАВ0 и ТТП расчитывали относительный риск по отношению к группе РТП, а также 95% доверительный интервал для точечной оценки. Сравнения проводили между группами РТП против нАВ0 и ТТП против нАВ0. Сравнений между группами РТП и ТТП не проводили, так как это не входило в задачи исследования. Выживаемость трансплантатов в группах оценивали по методу Kaplan–Meier и сравнивали между собой, используя log rank тест. Различия признавали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительная характеристика пациентов

Демографическая характеристика реципиентов представлена в табл. 4. Реципиенты в группах нАВ0 и РТП были однородны по половому и возрастному составу. Причины развития ТХПН достоверно не отличалась, ведущей нозологической формой был хронический гломерулонефрит. В группе нАВ0 отмечена тенденция ($p = 0,0731$) к более длительному лечению диализом до трансплантации – медиана 9 месяцев, интерквартильный размах [6; 34]. Медиана времени терапии диализом до пересадки в группе РТП составила 6 месяцев с интерквартильным размахом [1; 17]. Частота выполнения додиализных трансплантаций существенно не различалась ($p = 0,1756$). В отличие от группы нАВ0, в которой 8 (30,8%) пациентов более 2 лет получали ЗПТ до трансплантации, в группе РТП таких больных было 28 (17,7%). Также в группе нАВ0 чаще выполнялись повторные трансплантации: 11,5% против 3,1% в группе РТП, $p = 0,0867$. Медиана количества несовпадений по системе HLA и интерквартильные размахи были одинаковыми в двух группах и составили 3 [3; 3].

Реципиенты, перенесшие трупную трансплантацию почки, были достоверно старше, чем больные в группе нАВ0: медиана возраста реципиентов в группе ТТП составила 40 [31; 50,5] лет, в группе нАВ0 – 25 [22; 31] лет, p < 0,0001. Структура причин ХПН ТС в группах значимо не отличалась, ведущей нозологической формы был хронический гломерулонефрит. Длительность лечения диализом до трансплантации в группе нАВ0 была в 4 раза меньше и составила 9 [6; 34] месяцев против 36 [18,5; 60] в группе ТТП. Совместимость по системе HLA при трупной трансплантации была достоверно хуже, медиана количества несовместимостей составила 4 с интерквартильным размахом [3; 5]. Частота повторных трансплантаций в группах нАВ0 и ТТП существенно не отличалась (p = 1,0000) и составила 11,5 и 14,2% соответственно.

Таблица 4

Предоперационные данные реципиентов групп нАВ0, РТП и ТТП

Показатель	РТП (n = 158)	p1	нАВ0 (n = 26)	p2	ТТП (n = 226)
Возраст реципиента, лет					
Медиана [25%; 75%]	28 [23; 33]	0,2186	25 [22; 31]	**0,0000**	40 [31; 50,5]
Женский пол реципиента, n (%)	75 (47,5)	1,0000	12 (46,2)	1,0000	105 (46,5)
Диагноз, n (%)					
ХГН	81 (51,3)		13 (50,0)		134 (59,4)
ФСГС	2 (1,3)		0 (0,0)		2 (0,9)
ВАРМС	28 (17,7)		6 (23,1)		15 (6,6)
СД I типа	13 (8,2)	> 0,05	0 (0,0)	> 0,05	18 (8,0)
Поликистоз	6 (3,8)		1 (3,8)		13 (5,6)
Хр. пиелонефрит	4 (2,5)		1 (3,8)		3 (1,3)
Неизвестная этиология	14 (8,9)		3 (11,6)		16 (7,1)
Другое	10 (6,3)		2 (7,7)		25 (11,1)
Длительность ЗПТ, мес.					
Медиана [25%; 75%]	6 [1; 17]	0,0731	9 [6; 34]	**0,0002**	36 [18,5; 60]
Додиализная трансплантация, n (%)	31 (19,6)	0,1756	2 (7,7)	**0,0289**	1 (0,4)
Длительность ЗПТ более 2 лет, n (%)	28 (17,7)	0,0629	8 (30,8)	**0,0055**	146 (64,6)
Количество несовпадений по комплексу HLA					
Медиана [25%; 75%]	3 [3; 3]	0,8698	3 [3; 3]	**0,0001**	4 [3; 5]
Повторная трансплантация, n (%)	5 (3,1)	0,0867	3 (11,5)	1,000	32 (14,2)

Примечание. p1 – уровень значимости различий при сравнении групп нАВ0 и РТП, p2 – уровень значимости различий при сравнении групп нАВ0 и ТТП.

Основные предоперационные данные доноров почки представлены в табл. 5.

Таблица 5

Предоперационные данные доноров почки групп нАВ0, РТП и ТТП

Показатель	РТП (n = 158)	p1	нАВ0 (n = 26)	p2	ТТП (n = 226)
Возраст донора, лет Медиана [25–75%]	48 [40; 53]	0,2127	45 [40; 49]	0,1287	42 [30; 49]
Женский пол донора, n (%)	99 (62,7)	0,3945	14 (53,8)	0,0011	48 (21,2)
СКФ (Кокрофт–Голт), мл/мин Медиана [25–75%]	97 [84; 113]	0,2829	100 [85; 108]	–	–

Примечание. p1 – уровень значимости различий при сравнении групп нАВ0 и РТП, p2 – уровень значимости различий при сравнении групп нАВ0 и ТТП.

Исходный титр антигрупповых антител у пациентов группы нАВ0 класса IgM находился в пределах от 1:2 до 1:1024 с медианой 1:32 и интерквартильным размахом [1:4; 1:64]. Исходный уровень антител класса IgG лежал в пределах от 0 до 1:512 с медианой 1:4 и интерквартильным размахом [0; 1:16]. Исходные уровни антител всех пациентов группы нАВ0 представлены на рис. 1. В 8 (30,8%) наблюдениях исходный титр не превышал значения 1:8.

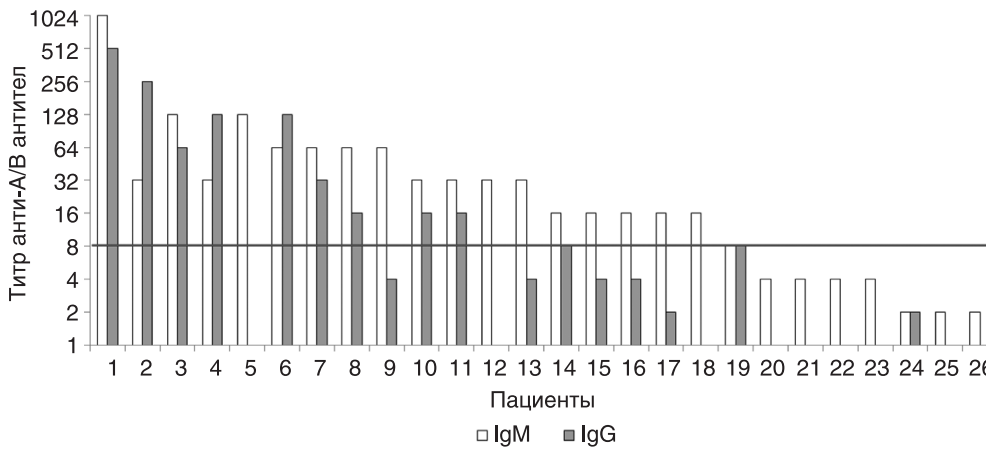


Рис. 1. **Исходные уровни антигрупповых антител у пациентов группы нАВ0. Хронология не соблюдена**

Подготовка к АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки

Доза ритуксимаба, использованная для подготовки пациентов, варьировала от 100 до 800 мг, или в пересчете на площадь поверхности тела от 93 до 400 мг/м^2. У первых пяти пациентов группы нАВ0 использовалась стандартная расчетная доза – 375 мг/м^2, у остальных пациентов доза ритуксимаба определялась в зависимости от исходного титра антигрупповых антител. Медиана использованной дозы ритуксимаба составила 262 мг/м^2 с интерквартильным размахом [161; 367], что достоверно ниже, чем расчетная доза, $p < 0,0001$.

Эффект от введения ритуксимаба оценивали по двум параметрам: снижение количества CD20+ клеток в периферической крови и снижение уровня антигрупповых антител. Медиана концентрации В-лимфоцитов до введения препарата составила 0,263 × 10 кл/мкл, интерквартильный размах [0,226 × 10^3; 0,350 × 10^3], через 2–3 дня после инфузии: медиана 0,010 × 10^3 кл/мкл, интерквартильный размах [0,008 × 10^3; 0,050 × 10^3], $p = 0,0033$. При дальнейшем мониторинге количества В-лимфоцитов в периферической крови отмечался период «плато» – с 3-го до 50-го дня после инфузии, когда содержание В-клеток у всех пациентов не превышало 0,1 × 10^3 кл/мкл. Начиная с 50-го дня происходило постепенное увеличение количества В-клеток, которое в течение последующих 7–10 дней возвращалось к своему дооперационному уровню.

Значимые изменения уровня антигрупповых антител классов IgM и IgG после введения ритуксимаба отсутствовали. Медиана титра анти-А/В антител до введения препарата и интерквартильный размах для антител класса IgM – 1:32 [1:4; 1:64], для антител класса IgG – 1:4 [0; 1:16]. После введения медианы и интерквартильные размахи для антител класса IgM и IgG не изменились, $p = 0,2329$ и $p = 0,1159$ соответственно.

Для предоперационного удаления антигрупповых антител 19 пациентам было проведено 38 сеансов ИА и 36 сеансов ПФ, 7 больным сеансы ИА или ПФ не проводили в связи с исходно низким уровнем анти-А/В антител. При проведении ИА и ПФ ни в одном случае не отмечено каких-либо серьезных нежелательных явлений. Эффективность сеансов ПФ и ИА оценивали, сравнивая уровень анти-А/В антител до процедуры и на следующий день. Уровень антител до и после каждой процедуры указан на рис. 2. Медиана снижения титра антител после одного сеанса плазмафереза и иммуноадсорбции равнялась одному разведению с интерквартильными размахами [1; 1] и [1; 1], $p = 0,5077$. Медиана обработанной плазмы в течение одной процедуры ИА составила 2700 мл с интерквартильным размахом [2500; 2900], что было достоверно выше, чем при проведении плазмафереза: медиана 2050 мл, интерквартильный размах [1875; 2175], $p < 0,0001$.

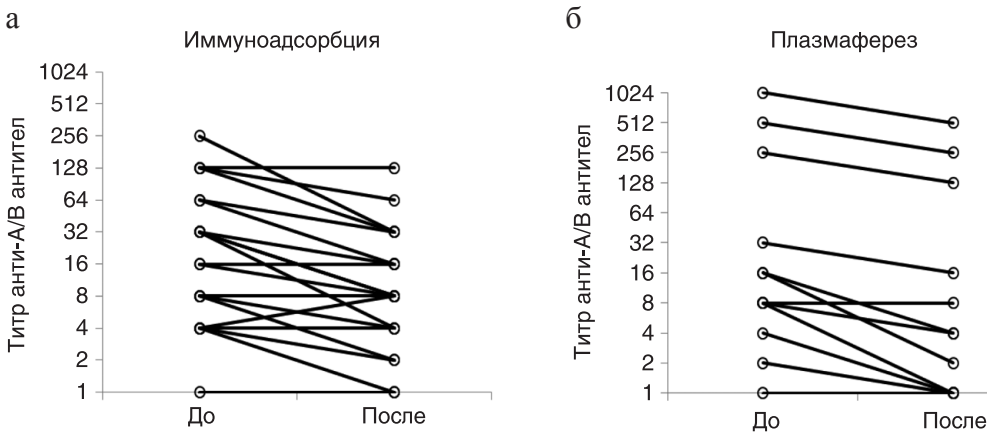


Рис. 2. **Титр антигрупповых антител до и после специфической иммуноадсорбции (а) и плазмафереза (б)**

Потребность в свежезамороженной плазме и альбумине была существенно выше при проведении ПФ, чем при ИА: 2050 мл [1875; 2175] против 100 мл [0; 200] соответственно, $p < 0{,}0001$.

Количество сеансов ПФ и/или ИА, которое требовалось для достижения безопасного уровня антигрупповых антител, зависело от исходного титра (рис. 3).

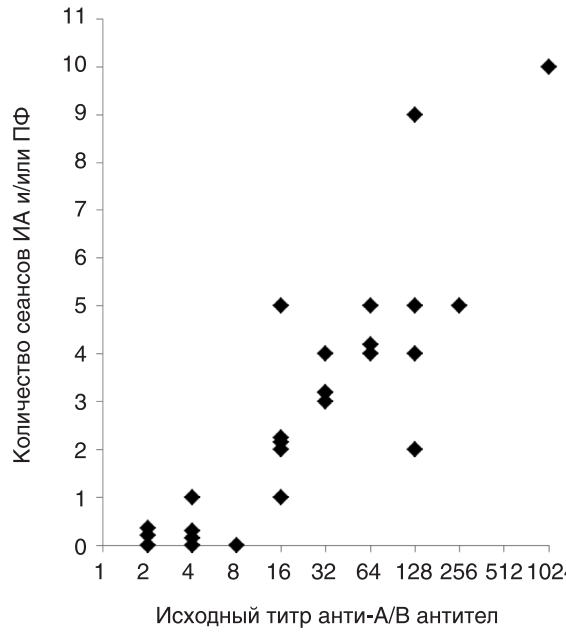


Рис. 3. **Потребность в сеансах ИА или ПФ в зависимости от исходного титра антигрупповых антител**

Время, которое требовалось для проведения предоперационной подготовки пациентам группы нАВ0, варьировало от 5 до 30 дней, с медианой 14 дней и интерквартильным размахом [10; 18]. Нами не было установлено четкой линейной зависимости между исходным титром антител и длительностью предоперационной подготовки. Однако наблюдалась очевидная тенденция к необходимости увеличения времени кондиционирования у пациентов с высоким титром антигрупповых антител. Так, медиана длительности подготовки пациентов (n = 8) с исходно допустимым титром анти-А/В антител (<1:8) составила 11 дней [8; 14], а для пациентов (n = 18) с исходным титром 1:16 и выше – 15 дней [12; 24], p = 0,0407.

С учетом внесенных модификаций нами сформулирован персонализированный протокол подготовки, определяющий длительность подготовки, дозу ритуксимаба, потребность в эфферентных методах элиминации антител, а также их вид (табл. 6).

Таблица 6

Персонализированный протокол подготовки пациента к АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки

Исходный титр анти-А/В антител	Доза Ртм	День введения Ртм	ПФ	ИА	ИГ	ИА/ПФ после трансплантации
≤1:8	200–300 мг	–7	Нет	Нет	0,5 г/кг независимо от исходного титра	Только если титр анти-А/В антител ≥ 1:16
1:16–1:64	500 мг	–10	Да	Нет		
≥1:128	375 мг/м^2	–14	+/–	Да		

Предоперационное кондиционирование было эффективным во всех наблюдениях, к моменту трансплантации у всех пациентов был достигнут целевой уровень антител. Медиана титра перед операцией составила 1:4 с интерквартильным размахом [1:2; 1:8].

Результаты трансплантаций

Медианы времени наблюдения за пациентами после трансплантации почки в группах нАВ0, РТП и ТТП составили 14,5 мес. [5; 27], 19 мес. [11; 30] и 15 мес. [5; 28] соответственно.

Данные о начальной функции трансплантатов, частоте и типе острого отторжения, а также об уровне сывороточного креатинина при выписке из клиники представлены в табл. 7.

При сравнении непосредственных результатов трансплантаций почки в группах нАВ0 и РТП значимые различия были выявлены только в частоте выполненных пункционных биопсий. По сравнению с группой

Таблица 7

Непосредственные результаты трансплантаций

	РТП (n = 158)	p1	нАВ0 (n = 26)	p2	ТТП (n = 226)
Функция трансплантата, n (%)					
Немедленная	151 (95,6)	1,0000	25 (96,2)	0,0000	107 (47,3)
Отсроченная	4 (2,5)	–	0 (0,0)	–	105 (46,5)
ПНФТ	2 (1,9)	–	1 (3,8)	–	14 (6,2)
Биопсия, n (%)	31 (19,6)	0,0008	14 (53,8)	0,0270	70 (31,0)
Подтвержденное биопсией острое отторжение	7 (4,5)	0,0520	2 (7,7)	0,4979	23 (10,1)
Клеточное, n (%)	7 (4,5)		1 (3,8)		19 (8,4)
Гуморальное, n (%)	0 (0,0)	0,6170	1 (3,8)	1,0000	4 (1,7)
Креатинин при выписке, мкмоль/л	110		109		137
Медиана [25–75%]	[84; 142]	0,6211	[98; 135]	0,0202	[107; 165]

Примечание. p1 – уровень значимости различий при сравнении групп нАВ0 и РТП, p2 – уровень значимости различий при сравнении групп нАВ0 и ТТП.

пациентов, перенесших трупную трансплантацию почки, у пациентов, не совместимых по группе крови с родственным донором, достоверно чаще наблюдалась немедленная функция трансплантата – 47,3% против 96,2% соответственно, $p < 0,0001$. Кроме того, в группе нАВ0 в послеоперационном периоде достоверно чаще выполнялись биопсии трансплантата. Медиана сывороточного креатинина при выписке у пациентов группы нАВ0 составила 109 мкмоль/л [98; 135] против 137 мкмоль/л [107; 165] в группе ТТП, различия были статистически значимыми, $p = 0,0202$.

Особенности функционирования АВ0-несовместимого трансплантата

В группе пациентов, перенесших трупную трансплантацию почки, немедленная функция трансплантата имела место у 47,3%. В группах нАВ0 и РТП в 96,2 и 95,6% наблюдений отмечалась немедленная функция трансплантата с быстрым восстановлением достаточного объема диуреза и быстрым снижением уровня сывороточного креатинина.

В течение первых двух суток у всех пациентов отмечалось быстрое снижение уровня креатинина, и на 3-й день этот показатель в группах нАВ0 и в выборке из группы РТП составил 136 мкмоль/л (111; 186) и 137 мкмоль/л (111; 166) соответственно. Статистически значимых различий не было – $p = 0,9387$. Далее ранний послеоперационный период

был разделен на 4 этапа: с 3-го по 7-й день, с 7-го по 14-й день, с 14-го по 21-й день и с 21-го по 28-й день после трансплантации. Изменение уровня сывороточного креатинина рассчитывали для каждого пациента как разницу между показателем креатинина в конце и в начале каждого из этапов. Для каждого периода рассчитывали медиану изменения уровня сывороточного креатинина в группах (рис. 4). Так, в период с 3-го по 7-й день отмечалось плавное снижение уровня сывороточного креатинина в обеих группах, p = 0,6581. Однако в период с 7-го по 14-й день тенденции были противоположными: если в выборке из группы РТП сывороточный креатинин продолжал снижаться (медиана изменения составила –5 мкмоль/л), то в группе РТП отмечался рост данного показателя (медиана изменения +8 мкмоль/л), **p = 0,0048**. В течение следующей недели (дни 14–21) сывороточный креатинин снижался в обеих группах с одинаковым темпом, p = 0,7730. На четвертой неделе в обеих группах также происходило снижение креатинина, однако более выражено оно было у пациентов, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию, **p = 0,0102**. К концу четвертой недели, т. е. при выписке из стационара, уровень сывороточного креатинина в группе нАВ0 и в случайной выборке из группы РТП составил 109 мкмоль/л (98; 135) и 106 мкмоль/л (98; 119), p = 0,2312. Полученные данные говорят о том, что для группы РТП

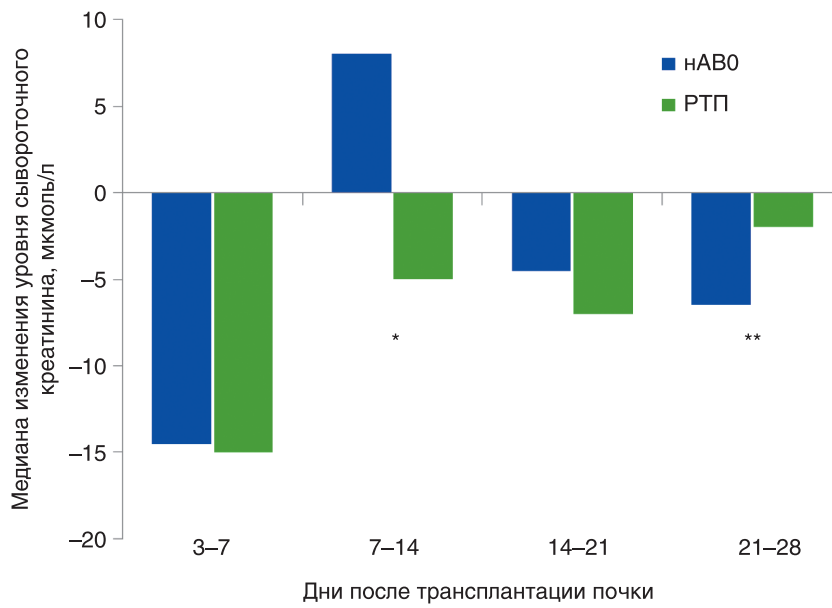


Рис. 4. **Динамика уровня сывороточного креатинина в течение первого месяца после трансплантации у пациентов групп нАВ0 и РТП. * – достоверное различие, p = 0,0048; ** – достоверное различие, p = 0,0102**

типичным является постепенное и стабильное снижение уровня сывороточного креатинина в течение раннего послеоперационого периода и его нормализация к исходу певого месяца после трансплантации. Отличительной чертой группы нАВ0 является рост уровя сывороточного креатинина в течение второй послеоперационной недели, который сменяется его стойким снижением на 3-й и 4-й нед. и нормализацией к моменту выписки пациента из клиники.

Титр антигрупповых антител у пациентов после АВ0-несовместимой трансплантации определялся как минимум 8 раз в течение первого месяца после операции.

При первом исследовании после трансплантации у 20 пациентов отмечено снижение титра или полное исчезновение анти-А/В антител. В пяти случаях титр был таким же, как и при последнем определении перед операцией, и находился в пределах допустимых значений. В одном наблюдении отмечен рост уровня анти-В антител класса IgM с 1:8 накануне трансплантации до 1:16 интраоперационно, именно в этом случае развился эпизод сверхострого отторжения, приведший к ранней утрате трансплантата. При последующих исследованиях, проведенных в течение первого месяца после трансплантации, наблюдались незначительные флюктуации титра не более чем на одно разведение, при этом уровень антигрупповых антител всегда оставался в пределах допустимых значений.

10 реципиентам группы нАВ0 на разных сроках после трансплантации было выполнены пункционные биопсии трансплантата: 9 больным – в течение первых 90 дней после операции; 1 пациенту – после 90 дней и 5 больным – и до, и после 90 дней.

В течение 3 месяцев после трансплантации 9 реципиентам было выполнено 14 пункционных биопсий. При этом 5 пациентам выполнена 1 биопсия, трем пациентам – 2 биопсии, одной больной – 3 биопсии. Медиана времени, прошедшего с момента трансплантации до выполнения первой пункционной биопсии, составила 15 дней с интерквартильным размахом [13; 20]. В одном наблюдении определены пограничные изменения, в одном – острое клеточное отторжение типа 1А по классификации Banff, в остальных случаях признаки острого клеточного отторжения отсутствовали. В одном наблюдении гистологическая картина соответствовала сверхострому отторжению. В 13 биоптатах (92,8%) отмечалась диффузная фиксация С4d-компонента комплемента в стенках перитубулярных капилляров.

Спустя 90 дней после операции пункционные биопсии выполнили 6 реципиентам, при этом пяти из них в течение первых 3 мес. также выполнялась биопсия. Всего проведено 9 исследований: пяти реципиентам – однократно, одному больному – 4 раза. В четырех биопсиях, выполненных одному пациенту, один раз определены пограничные изменения, дважды – острое клеточное отторжение типа 1А по Banff и в одном исследовании признаки острого клеточного отторжения отсутствовали. В двух биопта-

тах (22,2%) в стенке перитубулярных капилляров отмечалась диффузная фиксация C4d-компонента комплемента, еще в двух наблюдениях фиксация носила очаговый характер, в остальных случаях не определялась.

Таким образом, фиксация компонента комплемента C4d в стенках перитубулярных капилляров на сроках до 3 мес. после АВ0-несовместимой трансплантации не является признаком гуморального отторжения, а по-видимому, отражает протекающий процесс иммунологической аккомодации трансплантата. В двух наблюдениях, когда АВ0-несовместимые трансплантаты были утрачены, фиксация C4d сохранялась в течение 4 и 24 мес. соответственно.

За время наблюдения все реципиенты в группах нАВ0 и РТП живы. В группе ТТП на разных сроках после трансплантации умерло 7 пациентов, при этом 5 из них умерли с функционирующим трансплантатом. Ведущей причиной смерти стала острая сердечно-сосудистая недостаточность (4 наблюдения), в 2 случаях – сепсис, в одном наблюдении – онкологический процесс. Одно- и трехлетняя выживаемость пациентов в группе нАВ0 составила 100,0%, в группе ТТП – 97,0 и 96,0% соответственно, p = 0,3522. В группе РТП одно- и трехлетняя выживаемость реципиентов составила 100,0% и не отличалась от выживаемости в группе нАВ0, p = 1,000.

За период наблюдения во всех группах было утрачено 39 почечных трансплантатов: в группе нАВ0 – 3, в группе РТП – 8, в группе ТТП – 28. Утрату трансплантата определяли как возврат на диализ или смерть реципиента с функционирующим трансплантатом.

Причины утраты трансплантатов в раннем послеоперационном периоде

Структура ранних (в течение 30 дней после операции) потерь трансплантатов представлена в табл. 8.

Таблица 8

Структура ранних потерь трансплантатов в исследуемых группах

Причина	РТП (n = 158)	нАВ0 (n = 26)	ТТП (n = 226)
Смерть реципиента	0	0	3
Сверхострое отторжение	0	1	1
Хирургические осложнения	2	0	1
Инфекционные осложнения	1	0	3
ПНФТ	0	0	11
ПНФТ на фоне высокого иммунологического риска	0	0	3
Всего	3 (1,9%)	1 (3,8%)	22 (9,7%)

Риск утраты трансплантата в раннем послеоперационном периоде

Относительные риски ранней (в течение первого месяца) утраты трансплантата в группах нАВ0 и ТТП по сравнению с группой РТП составили 2,1 (0,2; 20,7 – 95% доверительный интервал) и 5,6 (1,6; 19,0 – 95% доверительный интервал) соответственно (рис. 5).

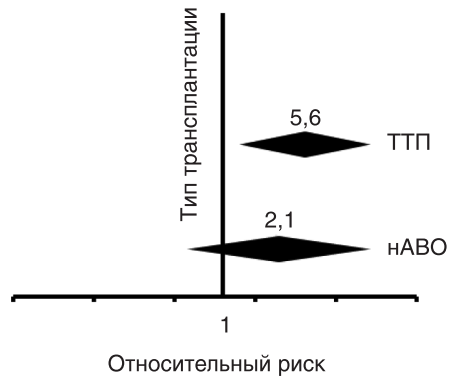


Рис. 5. **Относительный риск ранней утраты трансплантата в группах нАВ0 и ТТП**

Различия в рисках между группами РТП и нАВ0 статистически незначимы. Риск ранней утраты транслантата при пересадке от трупного донора в 5,6 раза выше, чем при совместимой по группе крови родственной трансплантации почки ($p < 0,05$).

Риск утраты трансплантата в отдаленном послеоперационном периоде

Относительные риски утраты трансплантата в отдаленном послеоперационном периоде в группах нАВ0 и ТТП составили 2,6 (0,5; 14,2 – 95% доверительный интервал) и 1,3 (0,3; 3,0 – 95% доверительный интервал) соответственно. Статистически достоверных различий при сравнении с группой РТП ни в одном, ни в другом случае установлено не было.

Кривые выживаемости трансплантатов в группах нАВ0, РТП и ТТП представлены на рис. 6.

Достоверных различий в выживаемости трансплантатов при сравнении групп нАВ0 и РТП ($p = 0,1677$), а также между группами нАВ0 и ТТП ($p = 0,9851$) получено не было.

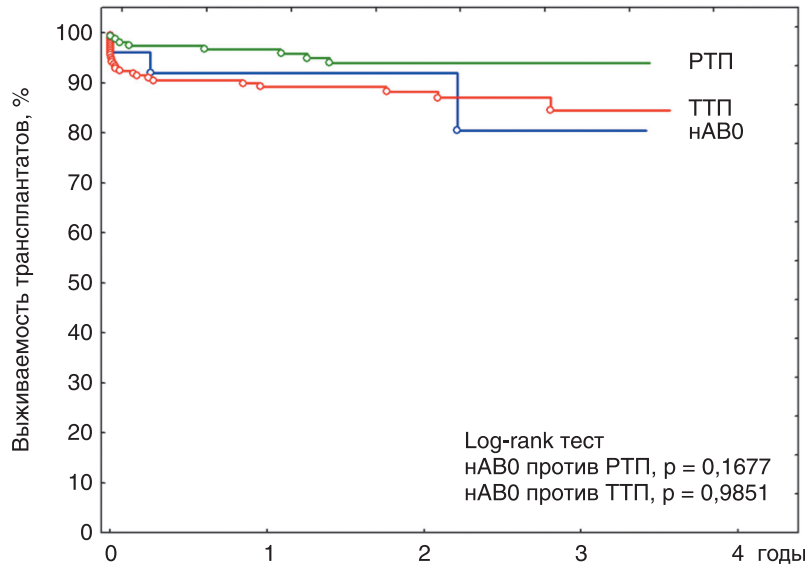


Рис. 6. **Выживаемость трансплантатов в исследуемых группах**

ВЫВОДЫ

1. Оптимальный протокол подготовки к АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки должен быть основан на комбинации ритуксимаба, плазмафереза и/или специфической иммуноадсорбции, сывороточного иммуноглобулина и трехкомпонентной иммуносупрессивной терапии. В зависимости от исходного титра анти-А/В антител возможна персонализация схемы кондиционирования.
2. Серьезных нежелательных явлений при подготовке не совместимой по группе крови трансплантации не наблюдалось. Во всех наблюдениях предоперационная подготовка была эффективна – ко дню трансплантации у всех пациентов титр анти-А/В антител не превышал целевого значения 1:8. Спектр послеоперационных осложнений, а также их частота и тяжесть достоверно не отличается в группах реципиентов, перенесших АВ0-несовместимую и АВ0-совместимую родственную трансплантацию почки.
3. Однократная инфузия ритуксимаба вызывает снижение количества В-лимфоцитов в периферической крови в 10 и более раз, которое наступает через 1–3 дня после введения препарата и длится до 50–60 дней. Динамика титра антигрупповых антител в период предоперационной подготовки является наиболее значимым показателем, позволяющим прогнозировать эффективность подготовки.

В послеоперационном периоде у большинства пациентов уровень антигрупповых антител классов IgM и IgG не превышает 1:8.

4. Фиксация компонента C4d-комплемента в стенках перитубулярных капилляров при иммуногистохимическом исследовании биоптата АВ0-несовместимого трансплантата в течение первых 3 мес. после операции при отсутствии дисфункции и других морфологических изменений не может рассматриваться как признак гуморального отторжения.
5. Отличительной особенностью течения раннего послеоперационного периода у пациентов, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию почки, является транзиторный подъем уровня сывороточного креатинина, развивающийся на 2–3-й послеоперационной неделе, который спонтанно нормализуется в течение 7–10 дней.
6. Результаты АВ0-несовместимых трансплантаций почки при сроке наблюдения до 3 лет не уступают результатам АВ0-совместимых родственных трансплантаций и результатам трансплантаций почки от трупного донора. Одно- и трехлетняя выживаемость трансплантатов после АВ0-несовместимой родственной трансплантации почки составляет 91,7 и 81,5%, после АВ0-совместимой родственной трансплантации – 96,6 и 93,9%, после трупной трансплантации почки – 90,0 и 83,1%. Не совместимая по группе крови трансплантация почки может рассматриваться как альтернатива ожиданию трупной пересадки почки при наличии не совместимого по группе крови родственного донора.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наличии нескольких потенциальных родственных доноров в первую очередь следует определить совместимость группы крови пациента с каждым из них. Планирование АВ0-несовместимой трансплантации целесообразно только в случае отсутствия совместимого по группе крови донора.
2. Исходный титр антител, а также последующие определения должны быть выполнены одним методом, в одной лаборатории. Последнее перед операцией определение титра антигрупповых антител должно быть проведено не ранее чем за 24 ч.
3. Полное обследование и донора, и реципиента, а также решение вопроса об отсутствии противопоказаний к трансплантации должны быть завершены до начала предоперационной подготовки.
4. Для избежания ложноположительных результатов перекрестная проба (кросс-матч) должна быть выполнена до введения ритуксимаба и сывороточного иммуноглобулина.

5. Препараты ритуксимаба и сывороточного иммуноглобулина следует вводить через кубитальный катетер в периферическую вену. Перед инфузией препаратов обязательна премедикация антигистаминными препаратами. Длительность инфузии не должна быть меньше 4 ч.
6. Если у пациента нет надежного сосудистого доступа (артериовенозная фистула или центральный двухпросветный катетер), то за 1–2 дня до начала сеансов плазмафереза или иммуноадсорбции необходимо установить двухпросветный диализный катетер и использовать его исключительно для экстракорпоральных процедур.
7. В течение первого месяца после АВ0-несовместимой трансплантации титр антигрупповых антител дожен измеряться не реже 2 раз в неделю.
8. При развитии дисфункции трансплантата необходимо в максимально сжатые сроки выполнить все диагностические тесты, включая пункционную биопсию трансплантата с иммуногистохимическим исследованием и определение анти-А/В и анти-HLA антител.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Мойсюк Я.Г.,* ***Сушков А.И.****, Пулькова Н.В., Абрамов В.Ю., Куприянова А.Г., Морозов Б.Н., Порунова А.К., Образцова Н.П., Адамова И.Ю., Готье С.В.* Первый отечественный опыт применения имуноадсорбции при АВ0-несовместимой трансплантации почки от живого родственного донора // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII. – № 4. – С. 6–18.
2. ***Sushkov A.I.****, Moysyuk Y.G., Morozov B.N., Pulkova N.V.* AB0-incompatible kidney transplantation: The First Russian experience with reusable antigen-specific immunoadsorption columns, rituximab and IVIg as precondition regimen // Therapeutic Apheresis and Dialysis. – 2011. – Vol. 15. – № 4. – P. A17.
3. ***Сушков А.И.****, Мойсюк Я.Г.* Динамика титров анти-А/В антител в течение предоперационного кондиционирования и после АВ0-несовместимой трансплантации почки от живого донора // Трансплантология. – 2011. – № 2–3. – С. 48–53.
4. ***Сушков А.И.****, Шаршаткин А.В., Морозов Б.Н., Куприянова А.Г., Пулькова Н.В., Мойсюк Я.Г., Готье С.В.* АВ0-несовместимая трансплантация почки от живого родственного донора // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. Приложение. – С. 40.
5. ***Сушков А.И.****, Боровкова Н.В., Доронина Н.В., Мойсюк Я.Г.* Успешная АВ0-несовместимая трасплантация почки от живого родственного донора пациенту высокого иммунологического риска // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 2. – С. 67–75.

6. ***Сушков А.И.**, Шаршаткин А.В., Азаренкова О.В., Ефимкин А.С., Малахов А.Г., Сайдулаев Д.А., Чичкин И.С., Илжанов М.И., Кандидова И.Е., Квадратова Н.Г., Мойсюк Я.Г.* Преодоление барьера несовместимости по группе крови при трансплантации почки от родственного донора // Нефрология и диализ. – 2013. – Т. 15. – № 4. – С. 286–292.
7. ***Sushkov A.**, Moysyuk Y.* Flexible immunosuppressive protocol for AB0-incompatible kidney transplantation // Transplant International. – Dec 2013. – Vol. 26. Issue S2. – P. 246.
8. ***Сушков А.И.**, Мойсюк Я.Г.* АВ0-несовместимая трансплантация почки от родственного донора // Нефрология и диализ. – 2013. – Т. 15. – № 4. – С. 366.
9. ***Сушков А.И.**, Мойсюк Я.Г.* Трехлетний опыт выполнения АВ0-несовместимых трансплантаций почки // Трансплантология. – 2014. – № 2. – С. 26–30.
10. ***Сушков А.И.**, Шаршаткин А.В., Мойсюк Я.Г.* Ритуксимаб при АВ0-несовместимой трансплантации почки: 375 мг/м^2 или меньше? // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. Приложение. – С. 62.
11. ***Сушков А.И.**, Мойсюк Я.Г.* Ритуксимаб при трансплантации почки // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. Приложение. – С. 61.
12. ***Сушков А.И.**, Шаршаткин А.В., Морозов Б.Н., Мойсюк Я.Г.* Десенсибилизация перед АВ0-несовместимой трансплантацией почки: плазмаферез или иммуноадсорбция? // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. Приложение. – С. 60.
13. ***Сушков А.И.**, Шаршаткин А.В., Азаренкова О.В., Мойсюк Я.Г.* Преодоление барьера несовместимости по группе крови как способ повышения доступности трансплантации почки // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. Приложение. – С. 58–59.
14. ***Sushkov A.**, Sharshatkin A., Moysyuk Y.* Flexible desensitization protocol for AB0-incompatible kidney transplantation // American Journal of Transplantation. – 27 Jun 2014. – Vol. 14 Issue S3. – P. 450.
15. *Мойсюк Я.Г.,* ***Сушков А.И.**, Шаршаткин А.В., Бикбов Б.Т., Азаренкова О.В.* Современные технологии и клинические исследования в трансплантации почки // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. – № 3. – С. 63–75.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВАРМС – врожденная аномалия развития мочевыделительной системы
ЗПТ – заместительная почечная терапия
ИА – иммуноадсорбция
ММФ – микофенолата мофетил
МП – метилпреднизолон

нАВ0	–	АВ0-несовместимая родственная трансплантация почки
ПНФТ	–	первично не функционирующий трансплантат
ПТК	–	перитубулярные капилляры
ПФ	–	плазмаферез
РТМ	–	ритуксимаб
РТП	–	родственная трансплантация почки
СД I типа	–	сахарный диабет I типа
СЗП	–	свежезамороженная плазма
СКФ	–	скорость клубочковой фильтрации
Так	–	такролимус
ТТП	–	трупная трансплантация почки
ФСГС	–	фокальный и сегментарный гломерулосклероз
ХГН	–	хронический гломерулонефрит
ХПН ТС	–	терминальная стадия хронической почечной недостаточности
HLA	–	human leukocyte antigens, система человеческих лейкоцитарных антигенов (главный комплекс гистосовместимости)

Цирульникова Ирина Евгеньевна

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПЕЧЕНИ ДЕТЯМ ОТ АВ0-НЕСОВМЕСТИМЫХ ДОНОРОВ

14.01.24 – трансплантология и искусственные органы

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва – 2014

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

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор **Шевченко Ольга Павловна**

Актуальность темы

Проблема трансплантации печени детям раннего возраста традиционно решается использованием левого латерального сектора печени взрослого донора. Чаще всего имеет место прижизненное родственное донорство при наличии совместимости по системе АВ0.

В условиях нарастания печеночной недостаточности при наличии императивных показаний к трансплантации у детей при отсутствии АВ0-идентичных или АВ0-совместимых потенциальных доноров использование АВ0-несовместимых доноров становится единственно возможным вариантом спасения жизни.

Исторически считается, что трансплантация органов от донора, не совместимого по группе крови, приводит к более низкой выживаемости трансплантатов и реципиентов из-за значительного увеличения частоты развития отторжения, а также сосудистых и других осложнений. Принципиальным преимуществом трансплантации печени от живого донора является возможность предоперационной подготовки реципиента с целью снижения титра группоспецифических антител перед операцией и снижения риска острого гуморального отторжения. Отсутствие группо-

специфических антител у реципиента во время и после АВ0-несовместимой трансплантации является условием предотвращения гуморального отторжения, как сверхострого, так и хронического. Для снижения титров анти-А/В антител проводились попытки применения внутривенной инфузии специфических растворимых антигенов группы крови донора (Yandza Th. и соавт., 1994). Более широкое применение получили экстракорпоральные методы элиминации группоспецифических антител – плазмаферез и иммуноадсорбция [Hanto D.W. и соавт., 2003; Kozaki K. и соавт., 2006; Genberg H. и соавт., 2010].

Начиная с 1990-х годов совершенствование протоколов ведения АВ0-несовместимых реципиентов печени, оптимизация иммуносупрессивной терапии и применение плазмафереза и иммуноадсорбции позволили существенно улучшить результаты трансплантаций печени [Hashimoto T. и соавт., 2000; Kawagishi N. и соавт., 2009]. К началу 2000-х годов появились сведения о наибольшей безопасности проведения АВ0-несовместимой трансплантации печени именно у детей, особенно первого года жизни [Egawa H. и соавт., 2004; Ohdan H. и соавт., 2007; Готье С.В. и соавт., 2008].

Изучив данные литературы, посвященные проведению АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста, можно заключить, что накопленный в мировой практике опыт подобных операций весьма мал и в большинстве опубликованных сообщений из отдельных трансплантационных центров составляет не более 10–20 наблюдений, часто включающих неоднородный по возрасту контингент пациентов. Современные протоколы пред- и послеоперационного ведения таких пациентов в целом схожи, хотя существуют разные мнения в отношении обязательности исследования и (при необходимости) снижения титров группоспецифических антител до и после трансплантации, допустимого для выполнения трансплантации уровня антител, выбора оптимальных схем иммуносупрессивной терапии и методов экстракорпоральной детоксикации.

В настоящее время проводятся исследования состояния иммунной, свертывающей, эндокринной и других важнейших систем поддержания гомеостаза реципиентов в условиях АВ0-несовместимой трансплантации печени, однако опубликованные данные немногочисленны и противоречивы.

В ФНЦТИО им. акад. В.И. Шумакова накоплен уникальный для мировой практики опыт успешных трансплантаций печени детям, в том числе от живого родственного донора, не совместимого по группе крови, что позволяет провести всесторонний анализ и расширить научно-практические подходы к данной проблеме.

Цель исследования

Обосновать эффективность и безопасность трансплантации печени детям от АВ0-несовместимых доноров при невозможности получения АВ0-идентичного или АВ0-совместимого трансплантата.

Задачи исследования

1. Изучить непосредственные и отдаленные результаты АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста.
2. На основании анализа данных дооперационного обследования и течения послеоперационного периода разработать критерии готовности к трансплантации потенциальных реципиентов АВ0-несовместимых трансплантатов печени.
3. Разработать протокол предоперационной подготовки потенциальных реципиентов АВ0-несовместимых трансплантатов печени.
4. Провести сравнительный анализ динамики биомаркеров иммунной системы, факторов роста, титров антилейкоцитарных антител у детей при АВ0-несовместимой и АВ0-совместимой трансплантации печени.
5. Разработать протокол послеоперационного динамического наблюдения и лечения реципиентов АВ0-несовместимых трансплантатов печени, направленный на минимизацию риска развития отторжения и других причин дисфункции трансплантата.

Научная новизна исследования

Впервые на основании изучения клинических и лабораторных данных, анализа ближайших и отдаленных результатов трансплантации, а также исследования динамики концентрации биомаркеров иммунной системы, факторов роста, антилейкоцитарных антител доказана эффективность и безопасность использования АВ0-несовместимых трансплантатов печени у детей при соблюдении предложенных критериев и принципов.

Сформулированные принципы предтрансплантационной подготовки реципиентов, протоколы обследования, критерии готовности реципиентов и доноров к АВ0-несовместимой трансплантации не имеют аналогов в мировой практике. Впервые выработаны и апробированы протоколы лечения пациентов раннего возраста после АВ0-несовместимой трансплантации печени, учитывающие наличие и динамику титров группоспецифических антител, риск инфекционных осложнений.

Предложен оригинальный способ определения титров группоспецифических антител в крови пациентов.

Новыми являются данные о динамике биомаркеров активации макрофагов (неоптерин), Тх2-лимфоцитов и В-клеток (растворимая форма

CD30 – sCD30), костимуляции Т-клеток (растворимая форма лиганда CD40 – sCD40L) при трансплантации печени детям раннего возраста и об отсутствии достоверных различий в концентрации этих показателей при АВ0-совместимой и АВ0-несовместимой трансплантации. Впервые охарактеризованы динамика уровней факторов роста (инсулиноподобного фактора роста-1 – ИФР-1, трансформирующего фактора роста β – TGF-β), частота встречаемости антилейкоцитарных антител при трансплантации печени детям и доказано отсутствие достоверных различий этих показателей при АВ0-совместимой и несовместимой трансплантации.

Практическая значимость исследования

Практическое значение имеют разработанная в ходе исследования и обоснованная концепция целесообразности АВ0-несовместимой трансплантации печени детям с терминальными стадиями заболеваний печени при невозможности получения АВ0-совместимого трансплантата; разработанные алгоритмы до- и послеоперационного обследования и лечения АВ0-несовместимых реципиентов печени – детей раннего возраста.

Результатом исследования являются рекомендации по пред- и послеоперационному ведению детей-реципиентов при трансплантации печени от АВ0-несовместимых доноров. Рекомендации имеют практическую значимость для врачей-педиатров и врачей-трансплантологов, принимающих участие в проведении родственной трансплантации печени в педиатрической практике.

Практическое значение имеет разработанный в ходе выполнения исследования метод определения титров группоспецифических антител в крови пациентов, который может быть использован в учреждениях практического здравоохранения.

Положения, выносимые на защиту

1. Трансплантация печени от АВ0-несовместимого донора является безопасным и эффективным методом лечения терминальных стадий цирроза у детей раннего возраста при невозможности получения трансплантата от донора, совместимого по группе крови. Ближайшие и отдаленные результаты (выживаемость реципиента и трансплантата, частота осложнений иммунного и неиммунного генеза) при АВ0-несовместимой трансплантации не уступают таковым при АВ0-совместимой трансплантации.
2. Выполнение АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста не требует усиления фоновой иммуносупрессивной терапии по сравнению с таковой у реципиентов АВ0-совместимых трансплантатов при условии регулярного исследования

уровня группоспецифических антител до и после трансплантации и поддержания титра последних в пределах безопасных значений (естественных антигрупповых антител – не более 1:8, иммунных – не более 1:4). В случае выявления повышенных титров группоспецифических антител показано проведение мероприятий, направленных на их снижение: трансфузии свежезамороженной плазмы группы АВ(IV), плазмаферез, инфузия ритуксимаба и сочетания указанных методик.

3. Уровень и динамика концентрации биомаркеров риска осложнений иммунной природы (sCD30, sCD40L, неоптерина) и фиброза (TGF-β) достоверно не различаются у детей после АВ0-совместимой и АВ0-несовместимой трансплантации печени, что является дополнительным подтверждением безопасности последней. Отсутствие различий в динамике ИФР-1, отражающей восстановление молекулярных механизмов гормональной регуляции роста, указывает на эффективность АВ0-несовместимой, как и АВ0-совместимой, трансплантации печени.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу: отделения хирургического № 2 (абдоминальной хирургии и трансплантации) ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, клинико-диагностической лаборатории ГУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина», отделения урологического ГБУЗ «Республиканская детская клиническая больница» г. Уфы; а также в программу учебного процесса на кафедре трансплантологии и искусственных органов лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в планировании, постановке задач и выполнении всех этапов исследования. Разработку диагностических алгоритмов, обследование и ведение детей до и после трансплантации автор осуществляла самостоятельно. Самостоятельно выполнила обработку и статистический анализ результатов исследования.

Апробация работы

Апробация работы состоялась 30 июня 2014 г. на конференции научных и клинических подразделений ФГБУ «Федеральный научный центр

трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на VI Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2012 г.), Всероссийском симпозиуме молодых ученых «Современные проблемы хирургии и хирургической онкологии» (Москва, 2012 г.), конгрессе Международной педиатрической трансплантологической ассоциации (International Pediatric Transplant Association) в Варшаве (2013 г.), конгрессе Европейского трансплантологического общества (European Society for Organ Transplantation) в Вене (2013 г.), научно-практической конференции «Инновации в современном федеральном мультидисциплинарном центре» (Санкт-Петербург, 2013 г.), VII Всероссийском съезде трансплантологов (Москва, 2014 г.), конгрессе Международного общества трансплантации печени (Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE) в Лондоне (2014 г.).

Публикации

По материалам исследования опубликованы 33 научные работы, из них 11 статей в центральных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 8 работ в зарубежной печати, 2 главы в книгах, получен патент на изобретение.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики пациентов и методов исследования, двух глав собственных исследований, обсуждения, семи выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 21 отечественный и 124 зарубежных источника. Работа изложена на 147 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 таблицей и 25 рисунками.

Характеристика клинических наблюдений и методов исследования

В исследование включены 160 первичных трансплантаций левого латерального сектора печени, выполненных в ФНЦТИО им. акад. В.И. Шумакова в период с 2010-го по 2013 г. детям в возрасте от 3 мес. и весом от 4 кг, страдающим терминальными стадиями заболеваний печени.

В основную группу, АВ0-несовместимых трансплантаций (АВ0н), вошли 29 детей – 12 мальчиков и 17 девочек в возрасте от 4 мес. до 2 лет 5 мес. (медиана – 8 мес., интерквартильный размах: [25%; 75%] – [7; 14 мес.]), с массой тела от 5 до 14 кг (медиана – 7 кг, интерквартильный размах: [25%; 75%] – [6,2; 9,0 кг]).

Группа АВ0-совместимых трансплантаций (АВ0с) состояла из 108 АВ0-идентичных и 23 АВ0-совместимых трансплантаций (всего – 131). Среди реципиентов – 58 мальчиков и 73 девочки в возрасте от 3 мес. до 5 лет (медиана – 8 мес., интерквартильный размах: [25%; 75%] – [6; 12 мес.]), с массой тела от 4 до 16,3 кг (медиана – 7 кг, интерквартильный размах: [25%; 75%] – [6; 8,2 кг]). В числе прочих в группу АВ0с вошли 2 сочетанные трансплантации почки и левого латерального сектора печени.

Не выявлено достоверных различий по возрасту (p = 0,2) и весу (p = 0,7) между детьми, включенными в группы АВ0н и АВ0с. По спектру заболеваний, послуживших показаниями к трансплантации, группы также принципиально не различались (табл. 1).

Таблица 1

Нозологические формы поражения печени

Диагноз	Общее число пациентов	Группа АВ0н	Группа АВ0с
Цирроз в исходе билиарной атрезии	100	18	82
Цирроз в исходе несиндромальной билиарной гипоплазии	13	0	13
Цирроз в исходе билиарной гипоплазии. Синдром Аладжиля	6	1	5
Цирроз в исходе прогрессирующего семейного внутрипеченочного холестаза 1, 2, 3-го типов	15	3	12
Цирроз в исходе синдрома Кароли	12	4	8
Цирроз в исходе недостаточности альфа-1-антитрипсина	2	1	1
Цирроз в исходе синдрома Бадда–Киари	1	1	0
Цирроз в исходе врожденных аномалий строения воротной вены	2	0	2
Криптогенный цирроз	4	0	4
Фульминантный гепатит	2	1	1
Синдром Криглера–Найяра 1-го типа	1	0	1
Болезнь Гирке	1	0	1
Гепатобластома	1	0	1
Всего	160	29	131

Донорами в группе АВ0н во всех случаях были совершеннолетние родственники пациентов: в 23 случаях – родители, в 3 – дядя либо тетя, более редко – сестра, двоюродный брат и двоюродная тетя. Перекрестная лимфоцитотоксическая проба была отрицательной во всех случаях.

Донорами у 130 пациентов группы АВ0с были также совершеннолетние кровные родственники пациентов (103 – родители, 16 – дядя/тетя,

более редко имели место и другие степени родства), одному ребенку была выполнена трансплантация левого латерального сектора печени посмертного донора. В большинстве случаев имела место хорошая тканевая совместимость между донором и реципиентом (не более 4 несовпадений), однако у пяти родственных пар было несовпадение по пяти, а у одной – по шести антигенам системы HLA. В одном наблюдении в серии исследований была положительная перекрестная лимфоцитотоксическая проба, ребенку проводился плазмаферез, после чего был получен отрицательный результат.

На рис. 1 представлен разработанный нами протокол подготовки реципиентов к АВ0-несовместимой трансплантации. Допустимыми считали титры естественных антигрупповых антител менее 1:8, иммунных – менее 1:4. Если уровень антител незначительно превышал целевые значения, а состояние реципиента позволяло не выполнять трансплантацию в экстренном порядке, практиковали динамическое мониторирование титров антител на фоне ежедневной трансфузии свежезамороженной плазмы (СЗП) АВ(IV). Во всех случаях коррекция исходной коагулопатии реципиентам проводилась с использованием СЗП только группы АВ(IV), а анемии – только отмытыми эритроцитами идентичной с реципиентом группы крови. Трансфузии тромбоконцентрата не проводились даже при

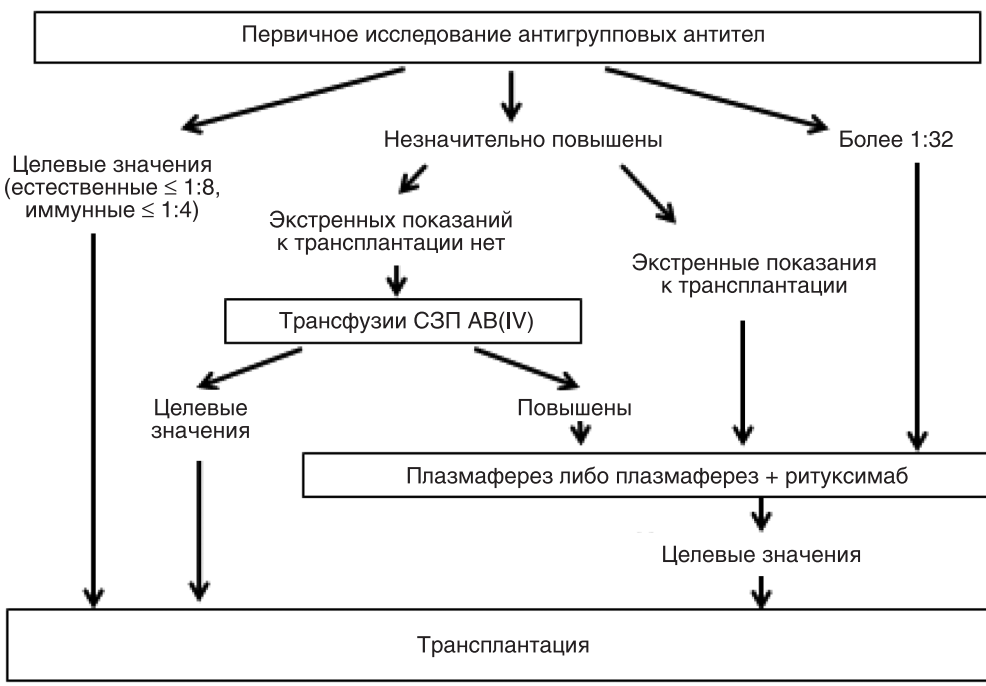


Рис. 1. **Алгоритм подготовки реципиентов к АВ0-несовместимой трансплантации**

выраженной тромбоцитопении в связи с невозможностью полного отделения тромбоцитарной массы от плазмы.

В случаях, когда, несмотря на трансфузионную терапию, титры антител превышали допустимые значения, либо при необходимости быстрой подготовки реципиента, либо в случае исходно высоких значений антител (более 1:32) считали обязательным проведение плазмафереза с полным замещением объема циркулирующей плазмы СЗП АВ(IV) – до элиминации избытка антител. Целесообразность введения ритуксимаба перед трансплантацией оценивалась индивидуально с учетом рисков инфекционных осложнений и наличия цитопении.

Исследование концентрации биомаркеров и факторов роста проводили методом иммуноферментного анализа с использованием специфических наборов реагентов: «eBioscience» BenderMedSystems, Австрия (sCD40L, sCD30, TGF-β); «IBL», Германия (неоптерин); GTi Diagnostics, США (анти-HLA I, II); Immunodiagnostic System, США (ИФР-1).

Полученные данные обрабатывали на компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, США) и MS Office Excel (MicroSoft, США). Данные представлены как медиана, интерквартильный размах с указанием минимальных и максимальных значений либо как среднее арифметическое и стандартное отклонение (M ± SD). Достоверность различий количественных параметров в двух группах определялась по U-критерию Манна–Уитни либо точному критерию Фишера. Для сравнения зависимых переменных применяли парный критерий Вилкоксона. Достоверность различий качественных признаков определялась путем построения таблиц сопряженности и их анализа с помощью критерия χ-квадрат. Для оценки связи количественных и качественных порядковых признаков рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические результаты трансплантации печени детям от родственного донора, совместимого и не совместимого по группе крови

Из 29 АВ0-несовместимых реципиентов у 19 исходные титры групповоспецифических антител были в пределах допустимых значений (естественных – не более 1:8, иммунных – не более 1:4), что не требовало специальной предоперационной подготовки. Еще у 4 пациентов при поступлении титры антител были незначительно повышены, однако на фоне трансфузий СЗП АВ(IV) к моменту выполнения трансплантации они снизились самостоятельно.

В послеоперационном периоде у 20 из 23 описанных выше реципиентов с исходно низким уровнем антител последние не повышались, па-

циенты получали стандартную иммуносупрессию согласно принятому в нашем центре протоколу. Трем пациентам, у которых отмечалось повышение титров антител в раннем послеоперационном периоде, проводили плазмаферез, приводивший к быстрой элиминации группоспецифических антител; в дальнейшем – стандартная иммуносупрессия.

Из 6 пациентов с исходно высокими титрами антигрупповых антител троим после санации исходных очагов инфекции за 2–3 нед. до трансплантации была проведена однократная инфузия ритуксимаба в дозе 375 мг/м^2 и затем плазмаферез (3, 5 и 6 сеансов) до достижения целевых значений титров антител.

Еще у трех детей в связи с высоким риском инфекционных осложнений ритуксимаб было решено не применять. Проведение плазмафереза позволило минимизировать титры группоспецифических антител. У одного из этих реципиентов в раннем послеоперационном периоде отмечался эпизод повышения антител, потребовавший дополнительного сеанса плазмафереза (рис. 2).

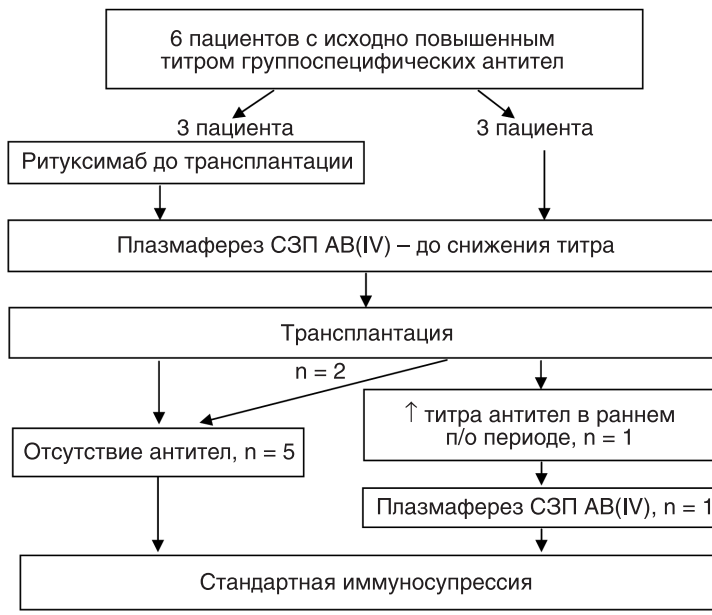


Рис. 2. **Алгоритм лечения пациентов с исходно повышенным титром группоспецифических антител (n – число пациентов)**

Иммуносупрессивная терапия после АВ0-несовместимой трансплантации, как и у АВ0-совместимых реципиентов, в большинстве случаев была представлена двухкомпонентной схемой: такролимусом и стероидами. У 9 детей из группы АВ0н потребовалось добавление микофенолатов. Ин-

дукция иммуносупрессии базиликсимабом проводилась всем пациентам. Частота использования двух- или трехкомпонентного протокола иммуносупрессии в группах АВ0с и АВ0н достоверно не различалась (рис. 3).

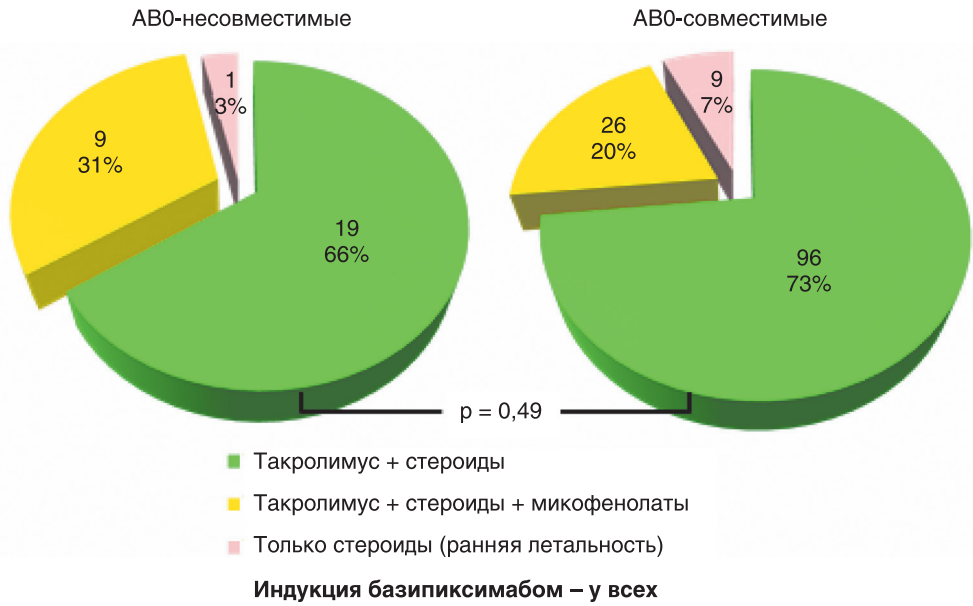


Рис. 3. **Иммуносупрессивная терапия у реципиентов групп АВ0н и АВ0с**

В группе АВ0н сверхострого отторжения не наблюдалось. Два пациента перенесли острое отторжение, которое в обоих случаях было успешно купировано пульс-терапией метилпреднизолоном. У одного из этих детей криз сопровождался подъемом антигрупповых антител, которые были элиминированы путем проведения двух сеансов плазмафереза. Ребенку, получавшему до криза двухкомпонентную иммуносупрессию, к терапии были добавлены микофенолаты. В дальнейшем у обоих больных течение послеоперационного периода гладкое (рис. 4).

Несмотря на то что, по данным мировой литературы, несовместимость донора и реципиента по группе крови повышает риск развития сверхострого отторжения, в нашей серии наблюдений единственный подобный случай имел место в только группе АВ0с, после АВ0-идентичной трансплантации, у пациентки с исходно положительным результатом cross-match.

Очевидно, что у этой пациентки отторжение было обусловлено антилимфоцитарными антителами, несмотря на то что перед трансплантацией после плазмафереза трижды был получен отрицательный результат cross-match.

Острое отторжение в группе АВ0с было диагностировано в 9 случаях. Всем пациентам проводилась пульс-терапия кортикостероидами, при от-

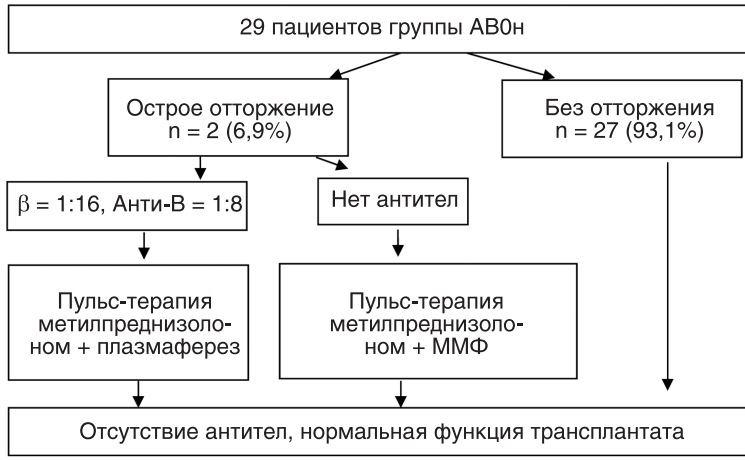


Рис. 4. **Иммунологические события пациентов группы АВ0н (n – число пациентов)**

сутствии противопоказаний добавлялись микофенолаты, у 7 пациентов отторжение удалось купировать (рис. 5). Острое отторжение трансплантата в группах АВ0с и АВ0н было диагностировано с одинаковой частотой – 6,9% случаев.

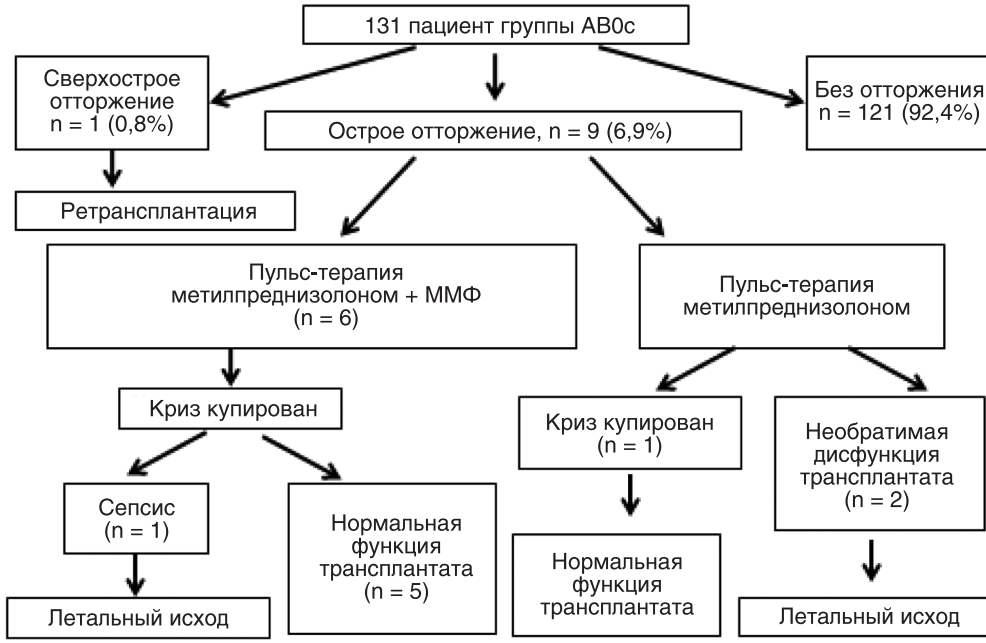


Рис. 5. **Иммунологические события после трансплантации у пациентов группы АВ0с (n – число пациентов)**

Сравнительный анализ показал отсутствие достоверных различий в частоте развития всех вариантов осложнений в группах АВ0с и АВ0н (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ посттрансплантационных осложнений у пациентов групп АВ0н и АВ0с

Осложнения	Группа АВ0н	Группа АВ0с	p
Сосудистые осложнения	**0**	**7 (5,34%)**	**0,35**
Тромбоз артериального анастомоза трансплантата	0	6	
Тромбоз портального анастомоза трансплантата	0	2	
Хирургические осложнения со стороны органов ЖКТ, потребовавшие экстренной релапаротомии	**3 (10,3%)**	**21 (16,0%)**	**0,57**
Перфорация тонкой кишки	1	10	
Внутрибрюшное кровотечение	0	5	
Острая тонкокишечная непроходимость	0	2	
Несостоятельность билиодигестивного анастомоза	0	2	
Асцит-перитонит	0	1	
Рецидивирующие кровотечения из ВРВП	0	1	
Несостоятельность межкишечного анастомоза	1	0	
Эрозивно-язвенное поражение	1	0	
Билиарные осложнения (неполный наружный желчный свищ)	**6 (20,7%)**	**24 (18,3%)**	**0,79**
Бактериальные инфекционные осложнения	**6 (20,7%)**	**25 (19,1%)**	**0,8**
Пневмония	5	12	
Экссудативный плеврит	1	1	
Бактериемия	1	15	
Острый гайморит	0	1	
Манифестная ЦМВ-инфекция	**0**	**4 (3,1%)**	**1,0**

Поскольку исторически проведение АВ0-несовместимой трансплантации печени связывалось с повышенной частотой развития сосудистых, инфекционных и билиарных осложнений, особенно важно отметить отсутствие сосудистых осложнений в группе АВ0н.

Тенденция к бóльшей частоте сосудистых осложнений в группе АВ0с в нашей серии наблюдений частично связана с тем, что в начале программы зачастую отдавали предпочтение АВ0-совместимому донору с более сложной сосудистой анатомией печени по сравнению с АВ0-несовместимым донором. Результаты настоящего исследования показали, что в случае адекватной подготовки реципиента несовместимость по группе крови значительно менее опасна, чем повышенный риск тромботических осложнений и потери трансплантата.

Из 29 пациентов группы АВ0н двое погибли в раннем послеоперационном периоде. Один ребенок – через месяц после трансплантации вследствие тяжелых рецидивирующих желудочно-кишечных кровотечений на фоне эрозивно-язвенного поражения. Как консервативное, так и оперативное лечение оказалось неэффективным, хотя на протяжении всего периода наблюдения функция трансплантата оставалась удовлетворительной. Еще один пациент погиб на 2-е сут после трансплантации вследствие острой сердечно-сосудистой недостаточности на фоне тяжести исходного состояния, обусловленной декомпенсированным циррозом печени, критической гипербилирубинемией – более 1100 мкмоль/л, печеночной энцефалопатией, сохранявшейся до трансплантации, несмотря на проведение терапии молекулярной адсорбирующей рециркулирующей системой (MARS-терапия).

Случаев отдаленной летальности после АВ0-несовместимой трансплантации не было. 25 пациентов регулярно наблюдаются с удовлетворительной функцией трансплантата, максимальный срок наблюдения – 4 года. Сведения о 26-м и 27-м пациентах отсутствуют, так как в различные сроки (через 3 мес. и 3 года после трансплантации) их родители прекратили наблюдение в трансплантационном центре.

Выживание реципиентов и трансплантатов в группе АВ0н, как в ранние, так и в отдаленные сроки после трансплантации, не уступало таковым в группе АВ0с. Более того, показатели актуарного выживания в группе АВ0н несколько превышают таковые в группе АВ0с, однако статистически достоверных различий между отдаленным выживанием в двух группах не выявлено (рис. 6).

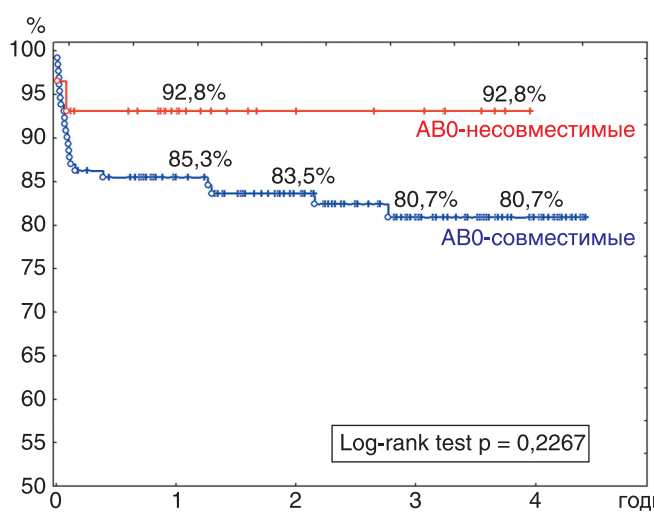


Рис. 6. **Актуарное выживание реципиентов групп АВ0н и АВ0с (кривая Каплана–Майера)**

Результаты исследования показали, что при использовании разработанного протокола пред- и послеоперационного ведения пациентов отсутствие совместимости донора и реципиента по системе АВ0 не оказывало отрицательного влияния как на ближайшие, так и на отдаленные результаты трансплантации.

Динамика содержания биомаркеров активации иммунной системы и факторов роста при трансплантации печени детям от родственного донора, совместимого и не совместимого по группе крови

Исследование инсулиноподобного фактора роста 1, продуцируемого гепатоцитами, показало, что после трансплантации у всех детей происходило увеличение исходно сниженной концентрации ИФР-1, отражавшее восстановление функциональной активности трансплантированной печени. Последнее является биологической основой нормализации антропометрических данных пациента (роста, веса). Уровни ИФР-1 не различались у детей после АВ0-совместимой и несовместимой трансплантации печени, как в ранние, так и в отдаленные сроки (рис. 7).

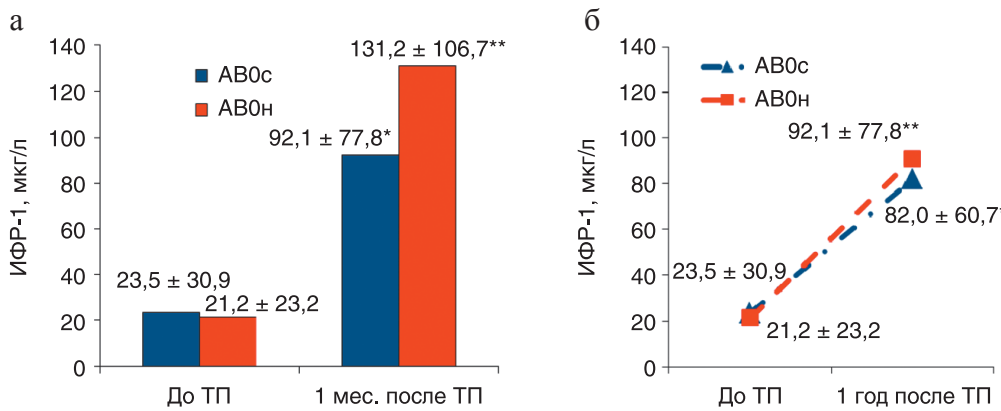


Рис. 7. **Сравнительный анализ уровней ИФР-1 у реципиентов печени в группах АВ0с и АВ0н до, через месяц (а) и один год (б) после трансплантации.**
***, ** – p < 0,005 в сравнении с уровнем до трансплантации**

Также не выявлено статистически значимых различий в содержании и динамике трансформирующего фактора роста (TGF-β), который может служить индикатором процессов пролиферации и фиброза при АВ0-несовместимой и АВ0-совместимой трансплантации печени у детей.

Результаты сравнительного анализа динамики уровней биомаркеров иммунной системы, отражающих функциональное состояние макрофагов (неоптерин), Т-2 лимфоцитов и В-клеток (sCD30), костимуляции Т-клеток (sCD40), показали отсутствие достоверных различий у реципиентов в ранние (конец 1-го мес.) и отдаленные (спустя год) сроки после трансплантации печени в обеих группах, в том числе при наличии у пациентов высоких титров антигрупповых антител до и/или после АВ0-несовместимой трансплантации (рис. 8). Индивидуальные различия в величине и динамике концентраций биомаркеров иммунной системы имели место и были связаны с течением посттрансплантационного периода у детей, перенесших трансплантацию от донора, совместимого и не совместимого по группе крови.

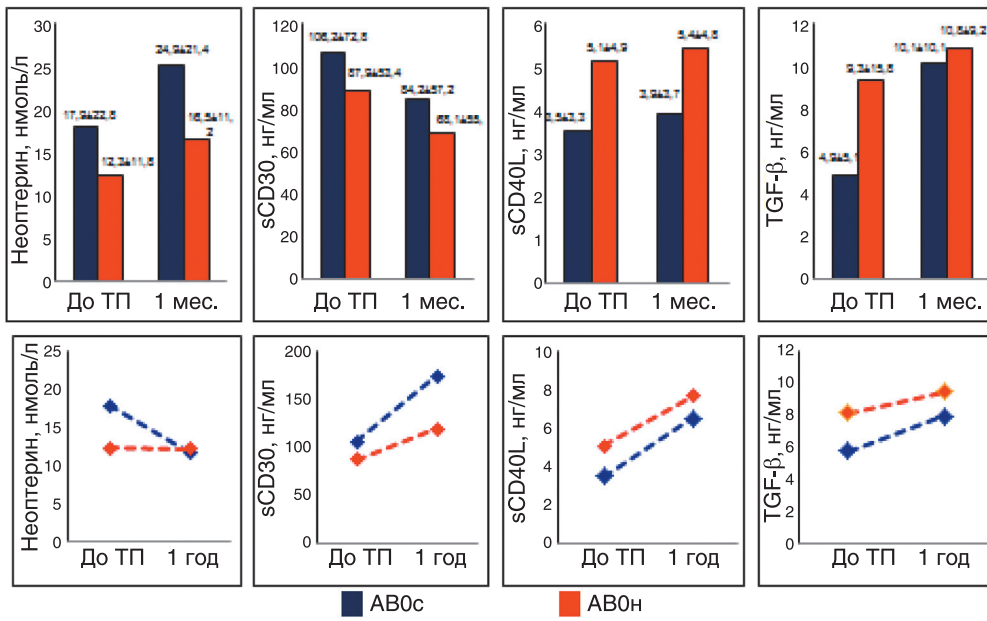


Рис. 8. **Динамика уровня биомаркеров иммунной системы у реципиентов групп АВ0н и АВ0с**

Антилейкоцитарные антитела против антигенов системы HLA I и II классов до трансплантации выявлялись у 11 (38%) пациентов группы АВ0н и у 35 (27%) пациентов группы АВ0с. Спустя год после трансплантации частота выявления анти-HLA не различалась (50 и 52% соответственно).

Представленные результаты свидетельствуют в пользу того, что трансплантация печени детям от АВ0-несовместимого донора не связана с увеличением риска осложнений иммунной природы и фиброза.

Таким образом, при соблюдении разработанного протокола АВ0-несовместимая трансплантация печени является безопасным и эффективным методом лечения детей с терминальными стадиями заболеваний печени. Ближайшие и отдаленные результаты АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей не уступают таковым при АВ0-совместимой трансплантации.

ВЫВОДЫ

1. Ближайшие и отдаленные результаты АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста не уступают таковым при АВ0-совместимой трансплантации. В группе детей, перенесших АВ0-несовместимую трансплантацию, выживание в течение месяца, в течение года и в течение 4 лет после операции составило 92,8, 92,8 и 92,8%, при АВ0-совместимой трансплантации – 90,1, 85,3 и 80,7% соответственно.
2. Критерии готовности реципиента к трансплантации печени от АВ0-несовместимого донора учитывают результаты контроля наличия и динамики титров группоспецифических антител. Для безопасного проведения трансплантации титры естественных антигрупповых антител – не более 1:8 и иммунных – не более 1:4 – являются допустимыми.
3. При подготовке потенциального реципиента АВ0-несовместимого трансплантата печени с титрами естественных антигрупповых антител, превышающими 1:8, или иммунных – свыше 1:4, необходимы методы, направленные на их снижение. Эффективны трансфузии свежезамороженной плазмы группы АВ(IV), плазмаферез, инфузия ритуксимаба и сочетания указанных методик.
4. В послеоперационном периоде исследование титров антигрупповых антител направлено на предотвращение либо своевременное подавление иммунологических событий. После АВ0-несовместимой трансплантации подъем титров группоспецифических антител наблюдался в 13,8% случаев. Элиминация либо минимизация титров антител до допустимых значений достигается проведением плазмафереза.
5. Трансплантация печени детям от АВ0-несовместимого донора не связана с увеличением риска осложнений иммунной природы, на что указывает одинаковая частота эпизодов отторжения в обеих группах (острое отторжение – 6,9%) и отсутствие статистически достоверных различий в содержании и динамике специфических биомаркеров (неоптерина, растворимых форм CD30 и лиганда CD40, анти-HLA антител I и II классов, а также трансформирующего фак-

тора роста β) в крови детей после трансплантации от АВ0-совместимого и АВ0-несовместимого доноров.

6. Иммуносупрессивная терапия при АВ0-несовместимой трансплантации печени, как и у реципиентов АВ0-совместимых трансплантатов, может быть представлена двумя или тремя компонентами в сочетании с индукцией иммуносупрессии. Выполнение АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей раннего возраста не требует усиления фоновой иммуносупрессивной терапии по сравнению с таковой у реципиентов АВ0-совместимых трансплантатов.
7. Трансплантация печени детям раннего возраста сопровождается нормализацией молекулярных механизмов регуляции роста, что проявляется увеличением исходно сниженной концентрации инсулиноподобного фактора роста 1 в крови реципиентов. Уровни этого фактора не различаются у детей после АВ0-совместимой и АВ0-несовместимой трансплантации в ранние (к концу первого месяца, $p = 0,09$) и отдаленные (через год, $p = 0,8$) сроки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Практическое осуществление АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей, помимо необходимых для проведения педиатрической трансплантации печени опыта и технического обеспечения трансплантационного центра, требует наличия условий и соблюдения протокола мониторинга титров группоспецифических антител и проведения экстракорпоральных методов их элиминации.
2. Во всех случаях, когда для проведения трансплантации рассматриваются варианты потенциальных АВ0-несовместимых родственных доноров, коррекцию исходных гипопротеинемии и факторов свертывания крови ребенку следует проводить путем трансфузии СЗП исключительно группы АВ(IV) независимо от групповой принадлежности реципиента. Для коррекции анемии всем реципиентам должны проводиться трансфузии только обедненной лейкоцитами и тромбоцитами эритроцитарной массы (отмытых эритроцитов). Трансфузии тромбоконцентрата противопоказаны даже при выраженной тромбоцитопении в связи с невозможностью полного отделения тромбоцитарной массы от СЗП. Те же правила трансфузионной терапии необходимо соблюдать и в послеоперационном периоде.
3. В предтрансплантационном периоде исследование титров группоспецифических антител у реципиентов необходимо проводить не реже, чем 1 раз в неделю, а при проведении десенсибилизирующей подготовки – чаще.

4. В случаях, когда уровень антигрупповых антител незначительно превышает целевые значения (естественных – не более 1:8, иммунных – не более 1:4) и состояние реципиента позволяет не выполнять трансплантацию в экстренном порядке, рекомендуется динамическое мониторирование титров антител на фоне ежедневной трансфузии СЗП АВ(IV).
5. В случаях, когда на фоне трансфузионной терапии титры группоспецифических антител остаются повышенными, либо при необходимости быстрого снижения уровня антител с исходно высоких значений (более 1:32) показано проведение плазмафереза с полным замещением объема циркулирующей плазмы СЗП АВ(IV). Уровень антигрупповых антител следует контролировать после каждого сеанса плазмафереза. В соответствии с полученными данными определяется необходимость последующих сеансов плазмафереза до достижения целевых значений уровня антител.
6. Для подготовки реципиентов с исходно повышенными устойчивыми титрами антигрупповых антител за 14–20 сут до планируемой даты трансплантации показано проведение однократной инфузии ритуксимаба в дозе 375 мг/м^2. В каждом конкретном случае необходимо убедиться в отсутствии у пациента противопоказаний к введению ритуксимаба. Последними являются: невозможность абсолютного купирования инфекционного процесса (например, в связи с ургентными показаниями к трансплантации), высокий риск реактивации пролеченного инфекционного заболевания, выраженная цитопения.
7. В послеоперационном периоде контроль титров группоспецифических антител у детей, перенесших трансплантацию от АВ0-несовместимого донора, должен проводиться в течение первой недели после трансплантации ежедневно, в течение второй недели – 1 раз в 2 дня, далее 2 раза в неделю, а начиная с 4-й нед. п/о – 1 раз в неделю до выписки из стационара. В случае колебаний уровня антител показано их более частое мониторирование. После выписки пациента из стационара исследование титров антигрупповых антител должно проводиться при каждом контрольном обследовании.
8. Протокол иммуносупрессивной терапии должен включать индукцию базиликсимабом 10 мг интраоперационно и на 4-е сут п/о, глюкокортикостероиды (по стандартной схеме), такролимус (целевая концентрация в течение первого полугодия после трансплантации – 7–12 нг/мл, далее – 6–10 нг/мл). При наличии показаний (перенесенного криза отторжения трансплантата; признаков недостаточности иммуносупрессии на фоне адекватной сывороточной концентрации такролимуса; необходимости поддержания низкой концентрации такролимуса по причине сопутствующих заболева-

ний), не ранее 3-й нед. после трансплантации, после нормализации функции ЖКТ и купирования исходной цитопении к терапии могут быть добавлены микофенолаты.

9. В случае повышения у реципиента в послеоперационном периоде титров антител выше целевых значений (см. п. 4) показано проведение плазмафереза с полным замещением объема циркулирующей плазмы СЗП АВ(IV) с последующим контролем уровня антигрупповых антител, на основании которого необходимо решить вопрос о дальнейшем проведении плазмафереза.
10. Вариант проведения ребенку АВ0-несовместимой трансплантации должен быть рассмотрен и в случаях наличия потенциальных родственных доноров, совместимых по группе крови, однако имеющих более 4 несовпадений по антигенам системы HLA и/или положительную перекрестную лимфоцитотоксическую пробу с реципиентом.
11. Использование биомаркеров иммунной системы для прогнозирования, оценки течения посттрансплантационного периода и/или изучения взаимоотношений трансплантата и организма реципиента целесообразно проводить вне зависимости от совместимости донора и реципиента по группе крови.
12. У пациентов с наличием антигрупповых (анти-А/В) антител при интерпретации данных о концентрации биомаркеров необходимо учитывать потенциальное влияние методов профилактики и десенсибилизирующей терапии (например, плазмафереза, введения ритуксимаба) на содержание иммунных биомаркеров.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Аммосов А.А., Хизроев Х.М., Арзуманов С.В., Гамгия Н.В., Попцов В.В., Ухренков С.Г., Пчельников В.В., Муратова Н.Ш., Пец В.А., Чеклецова Е.В.,* ***Цирульникова И.Е.,*** *Погребниченко И.В., Фокин С.В., Ахаладзе Д.Г., Солохина Е.А., Мнацаканян Д.С., Джанбеков Т.А.* Трансплантация печени у детей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, приложение. – С. 112–113.
2. *Курабекова Р.М., Муратова Н.Ш.,* ***Цирульникова И.Е.,*** *Наумова Е.В., Луговская С.А., Цирульникова О.М., Шевченко О.П.* Исследование мобилизации CD34+ клеток и уровня С-реактивного белка у реципиентов и доноров печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. XII, приложение. – С. 130–131.
3. *Цирульникова О.М.,* ***Цирульникова И.Е.*** Цитомегаловирусная инфекция и ее роль в трансплантации солидных органов // Инфекции в трансплантологии; под ред. С.В. Готье. – М.–Тверь: Триада, 2010. – С. 223–246.

4. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Аммосов А.А., Лурье Ю.Э., Мойсюк Я.Г., Попцов В.Н., Погребниченко И.В., Порунова А.К., Образцова Н.П.,* ***Цирульникова И.Е.*** Опыт АВ0-несовместимых трансплантаций печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII. – № 2. – С. 21–28.

5. *Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Пищулина М.Э.,* ***Цирульникова И.Е.****, Муратова Н.Ш., Цирульникова О.М., Готье С.В.* Неоптерин при трансплантации печени детям с врожденными заболеваниями печени и желчевыводящих путей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII. – № 2. – С. 58–62.

6. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Курабекова Р.М., Луговская С.А., Наумова Е.В., Муратова Н.Ш.,* ***Цирульникова И.Е.****, Готье С.В.* Динамика содержания СБ34/СБ45-позитивных клеток в периферической крови пациентов после ортотопической трансплантации и резекции доли печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII. – № 3. – С. 8–14.

7. *Цирульникова О.М., Лурье Ю.Э.,* ***Цирульникова И.Е.****, Готье С.В.* 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. 273–336.

8. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Олефиренко Г.А., Пищулина М.Э.,* ***Цирульникова И.Е.****, Муратова Н.Ш., Бугров А.В., Андрианова А.А.* Уровень sCD30 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями печени и желчевыводящих путей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. XIII. – № 4. – С. 37–42.

9. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Бугров А.В., Лурье Ю.Э.,* ***Цирульникова И.Е.****, Мнацаканян Д.С., Гичкун О.Е., Готье С.В.* Инсулиноподобный фактор роста 1 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 1. – С. 50–54.

10. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Гичкун О.Е., Макарова Л.В.,* ***Цирульникова И.Е.****, Ахаладзе Д.Г., Шмерко Н.В., Готье С.В.* Прогностическое значение растворимой формы лиганда CD40 при трансплантации печени детям с врожденными и наследственными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 2. – С. 15–19.

11. *Gautier S., Shevchenko O., Tsirulnikova O., Kurabekova R., Lugovskaya S., Naumova E., Gichkun O.,* ***Tsirulnikova I.*** Concentration of CD34/CD45 positive cells in peripheral blood of pediatric patients before and after living donor liver transplantation // 24th International Congress of Transplantation Society. – Berlin, July 15–19 2012. – P. 201.

12. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М., Лурье Ю.Э., Бугров А.В.,* ***Цирульникова И.Е.****, Ахаладзе Д.Г., Готье С.В.* Динамика гормона роста при трансплантации печени детям раннего возраста с заболеваниями гепатобилиарной

системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 3. – С. 31–36.

13. *Лурье Ю.Э., Цирульникова О.М., Бугров А.В.,* ***Цирульникова И.Е.****, Мнацаканян Д.С., Шевченко О.П.* Инсулиноподобный фактор роста 1 при трансплантации печени детям с врожденными заболеваниями гепатобилиарной системы // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, приложение. – С. 159.
14. *Гичкун О.Е., Цирульникова О.М.,* ***Цирульникова И.Е.****, Бугров А.В., Курабекова Р.М., Андрианова А.А., Шевченко О.П.* Анализ связи предсуществующих антител к HLA с течением постоперационного периода после трансплантации печени детям // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV, приложение. – С. 161–162.
15. ***Цирульникова И.Е.*** Успешное преодоление барьера групповой несовместимости при трансплантации печени у детей // Всероссийский симпозиум молодых ученых «Современные проблемы хирургии и хирургической онкологии» 29–30 ноября 2012 г. – Сборник научных трудов. – 2012. – С. 37.
16. ***Цирульникова И.Е.*** Совместимость по системе АВ0 и АВ0-несовместимая трансплантация печени детям // Лаборатория. – 2012. – № 5. – С. 3–6.
17. *Курабекова Р.М., Луговская С.А., Наумова Е.В., Цирульникова О.М.,* ***Цирульникова И.Е.****, Гичкун О.Е., Андриянова А.А., Шмерко Н.П., Шевченко О.П.* Анализ связи количества гемопоэтических стволовых клеток крови с лабораторными показателями состояния гепатобилиарной системы у детей с врожденными и наследственными заболеваниями печени // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 7. – С. 28–31.
18. ***Цирульникова И.Е.,*** *Шевченко О.П.* АВ0-несовместимая трансплантация печени у детей: анализ мирового опыта // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2012. – Т. XIV. – № 4. – С. 115–123.
19. *Shevchenko O., Gautier S., Tsirulnikova O., Kurabekova R., Lugovskaya S., Naumova E., Gichkun O.,* ***Tsirulnikova I.*** Concentration of CD34/CD45 positive cells in peripheral blood of pediatric patients before and after living donor liver transplantation // Transplantation. – 27 November. 2012. – Vol. 94. – P. 1202.
20. ***Tsirulnikova I.****, Gautier S., Tsirulnikova O., Akhaladze D., Kuncevich N., Shevchenko O.* AB0-incompatible living donor liver transplantation in pediatric recipients: report of 13 cases // Pediatric Transplantation. – 2013. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. 43.
21. *Gautier S., Tsirulnikova O., Khizroev K., Monakhov A.,* ***Tsirulnikova I.****, Mnatsakanyan D.* Fifteen years experience of pediatric liver transplantation // Pediatric Transplantation. – 2013. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. 99.
22. *Shevchenko O., Tsirulnikova O., Kurabekova R., Lugovskaya S., Naumova E.,* ***Tsirulnikova I.****, Dolgov V., Gautier S.* Living donor liver transplantation in pediatric patients: bone marrow stem cell count correlates with soluble CD40L level // Pediatric Transplantation. – 2013. – Vol. 17. – Suppl. 1. – P. 105.
23. *Gautier S., Tsirulnikova O.,* ***Tsirulnikova I.****, Akhaladze D., Silina O., Shevchenko O.* Pre- and postoperative management in AB0-incompatible pediatric li-

ving donor liver transplantation // Transplant International. – 2013. – Vol. 26. – Suppl. 2. – P. 181.

24. *Shevchenko O., Tsirulnikova O.,* ***Tsirulnikova I.****, Gichkun O., Kuncevich N., Kurabekova R., Gautier S.* Plasma levels of growth factors and immune biomarkers in pediatric patients after AB0-incompatible living donor liver transplantation // Transplant International. – 2013. – Vol. 26. – Suppl. 2. – P. 181.
25. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Шевченко О.П.,* ***Цирульникова И.Е.****, Ахаладзе Д.Г., Силина О.В.* АВ0-несовместимая трансплантация печени у детей: опыт ФНЦТИО им. ак. В.И. Шумакова // Материалы научно-практической конференции (с международным участием) «Инновации в современном федеральном мультидисциплинарном центре». – СПб., 2013. – С. 85.
26. *Готье С.В., Порунова А.К., Морозова В.В.,* ***Цирульникова И.Е.****, Цирульникова О.М.* Способ титрования групповых антител системы АВ0 // Патент на изобретение № 2526820 от 02.07.2014 г.
27. *Готье С.В., Шевченко О.П.,* ***Цирульникова И.Е.,*** *Хизроев Х.М., Цирульникова О. М., Попцов В.Н.* Опыт АВ0-несовместимой трансплантации печени у детей // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI, приложение. – С. 87.
28. *Готье С.В.,* ***Цирульникова И.Е.****, Хизроев Х.М., Цирульникова О.М., Джанбеков Т.А., Пчельников В.В.* Гипероксалурия: трансплантация печени до поражения почек // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI, приложение. – С. 97–98.
29. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М.,* ***Цирульникова И.Е.****, Гичкун О.Е., Олефиренко Г.А., Курабекова Р.М., Готье С.В.* Биомаркеры иммунной системы при родственной трансплантации печени детям от АВ0-несовместимого донора // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI, приложение. – С. 123.
30. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М.,* ***Цирульникова И.Е.****, Курабекова Р.М., Олефиренко Г.А., Степанова О.И., Макарова Л.В., Готье С.В.* Уровни факторов роста не различаются при трансплантации печени детям от АВ0-совместимого и АВ0-несовместимого донора // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI, приложение. – С. 124.
31. *Шевченко О.П., Цирульникова О.М.,* ***Цирульникова И.Е.****, Курабекова Р.М., Олефиренко Г.А., Степанова О.И., Готье С.В.* Динамика инсулиноподобного фактора роста 1 при трансплантации печени детям от донора, не совместимого по группе крови // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. – № 2. – С. 46–51.
32. *Gautier S.V.,* ***Tsirulnikova I.E.****, Poptsov V.N., Tsirulnikova O.M., Shevchenko O.P.* AB0 incompatible pediatric liver transplantation: experience of a single center // Liver Transplantation. – June 2014. – Vol. 20. – № 6. – Suppl. 1. – P. S209.
33. *Готье С.В., Цирульникова О.М., Мойсюк Я.Г., Ахаладзе Д.Г.,* ***Цирульникова И.Е.****, Силина О.В., Хизроев Х.М., Монахов А.Р., Чеклецова Е.В., Пец В.А., Попцов В.В.* Трансплантация печени детям: анализ шестилетнего опыта // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2014. – Т. XVI. – № 3. – С. 54–62.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1
ММФ – микофенолата мофетил / микофеноловая кислота
СЗП – свежезамороженная плазма
ТП – трансплантация печени
ЦМВ – цитомегаловирус
анти-HLA – антитела против антигенов системы HLA
HLA – лейкоцитарный антиген человека
MARS – молекулярная адсорбирующая рециркулирующая система
sCD30 – растворимая форма CD30
sCD40L – растворимая форма лиганда CD40
TGF-β – трансформирующий фактор роста β

УКАЗАТЕЛЬ РАБОТ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ В ОБЛАСТИ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ИСКУССТВЕННЫХ ОРГАНОВ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЗАРУБЕЖНЫХ ИЗДАНИЯХ В 2014 г.

1. **Antonenko Y.N.** Photodynamic activity of the boronated chlorine e6 amide in artificial and cellular membranes [Текст] / Y.N. Antonenko, E.A. Kotova, E.O. Omarova, T.I. Rokitskaya, V.A. Ol'shevskaya, V.N. Kalinin, R.G. Nikitina, J.S. Osipchuk, M.A. Kaplan, A.A. Ramonova, M.M. Moisenovich, I.I. Agapov, M.P. Kirpichnikov // Biochimica et Biophysica Acta. – 2014. – Vol. 1838. – Iss. 3. – P. 793–801.
2. **Bikbov B.** High serum cholesterol: A missed risk factor for chronic kidney disease mortality [Текст] / B. Bikbov, N. Perico, G. Remuzzi // The Lancet Diabetes and Endocrinology. – 2014. – Vol. 2. – Iss. 8. – P. 613–614.
3. **Bikbov B.** Impact of hemodialysis permanent and temporary switch to peritoneal dialysis on patient survival: a cohort study [Текст] / B. Bikbov, N. Tomilina // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2014. – Vol. 29. – Suppl. 3. – P. 521.
4. **Bikbov B.** Impact of initial dialysis modality and modality switches on patient survival: a cohort study [Текст] / B. Bikbov, N. Tomilina, O. Kotenko, A. Andrusev // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2014. – Vol. 29. – Suppl. 3. – P. 519–520.
5. **Bikbov B.T.** Mortality landscape in the Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors Study [Текст] / B.T. Bikbov, N. Perico, G. Remuzzi. – 2014. – Vol. 25. – Iss. 1. – P. 1–5.
6. **Gautier S.V.** AB0-incompatibe pediatric liver transplantation: experience of a single center [Текст] / S.V. Gautier, I.E. Tsirulnikova, V.N. Poptsov, O.M. Tsirulnikova, O.P. Shevchenko // Liver transplantation. – 2014. – Vol. 20. – № 6. – P. 209.
7. **Gautier S.V.** Pediatric simultaneous liver-kidney transplantation from one liver donor [Текст] / S.V. Gautier, A.R. Monakhov, O.M. Tsirulnikova, Y.G. Moisuk, K.M. Khizroev // Liver transplantation. – 2014. – Vol. 20. – № 6. – P. 365–366.
8. **Gautier S.V.** Surgical technique of left lateral section liver graft replacement in children [Текст] / S.V. Gautier, D.G. Akhaladze // Liver transplantation. – 2014. – Vol. 20. – № 6. – P. 121.
9. **Moisenovich M.M.** Composite Scaffolds Containing Silk Fibroin, Gelatin, and Hydroxyapatite for Bone Tissue Regeneration and 3D Cell Culturing [Текст] / M.M. Moisenovich, A.Y. Arkhipova, A.A. Orlova, M.S. Drutskaya, S.V. Volkova, S.E. Zacharov, I.I. Agapov, M.P. Kirpichnikov // Acta Naturae. – 2014. – Vol. 6. – № 1 (20). – P. 96–101.
10. **Noordzij M.** Renal replacement therapy in Europe: A summary of the 2011 ERA-EDTA Registry Annual Report [Текст] / M. Noordzij, A. Kramer, J.M. Abad Diez, R. Alonso De La Torre, E. Arcos Fuster, B.T. Bikbov, M. Bonthuis, E. Bouzas Caamaño, S. Čala, F.J. Caskey, P. Castro De La Nuez, H. Cernevskis, F. Collart, R. Díaz Tejeiro, L. Djukanovic, M. Ferrer-Alamar, P. Finne, M.D.L.A. García Bazaga, L. Garneata, E. Golan, R. Gonzalez Fernández, J.G. Heaf, A. Hoitsma, G.A. Ioannidis, M. Kolesnyk, R. Kramar, M. Lasalle, T. Leivestad, F. Lopot, M.W.M. Van De Luijtgaarden, F. Macário, Á. Magaz, E. Martín Escobar, J. De Meester, W. Metcalfe, M. Ots-Rosenberg, R.C. Palsson, Piñera, M. Pippias, K.G. Prütz, M. Ratkovic, H. Resić, A. Rodríguez Hernández, B. Rutkowski,

C. Wanner, K.J. Jager // Clinical Kidney Journal. – 2014. – Vol. 7. – Iss. 2. – P. 227–238.

11. **Onishenko N.** Tissue-specific small-dispersed matrix-as a technological basis for producing implants cell-engineering designs [Текст] / N. Onishenko, M. Krasheninnikov, M. Shagidulin, I. Iljnsky, N. Mogeiko, P. Avramov, S. Gautier // The International Journal of Artificial Organs. – 2014. – Vol. 37. – № 8. – P. 632.
12. **Poptsov V.N.** Peripheral veno-arterial ECMO as a bridge to heart transplantation: outcomes from a single-centre experience [Текст] / V.N. Poptsov, E.A. Spirina, R.S. Saitgareev, V.M. Zakharevich, O.A. Eremeeva, S.A. Masyutin // The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2014. – Vol. 33. – № 4S. – P. 247–248.
13. **Rokitskaya T.I.** Unsaturated lipids protect the integral membrane peptide gramicidin A from singlet oxygen [Текст] / T.I. Rokitskaya, E.A. Kotova, I.I. Agapov, M.M. Moisenovich, Y.N. Antonenko // FEBS Letters. – 2014. – Vol. 588. – Iss. 9. – P. 1590–1595.
14. **Shevchenko O.P.** Association between plasma level of soluble receptor for advanced glycation end products and biomarkers of cardiac allograft vasculopathy in heart recipients [Текст] / O.P. Shevchenko, N.V. Kuncevich, A.O. Shevchenko, R.M. Kurabekova, T.A. Khalilulin, I.I. Muminov, S.V. Gautier // The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2014. – Vol. 33. – № 4S. – P. 261.
15. **Shevchenko O.P.** Predictive value of PAPP-A, sCD40L, anti-HLA Antibodies detected by ELISA and Luminex in heart transplant recipients [Текст] / O.P. Shevchenko, T.A. Khalilulin, A.O. Shevchenko, N.V. Apanasenko, E.A. Stakhanova, A.J. Kormer, B.L. Mironkov, A.G. Kupriyanova, S.V. Gautier // The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2014. – Vol. 33. – № 4S. – P. 135.
16. **Surguchenko V.A.** The cell-engineered construct of cartilage on the basis of biopolymer hydrogel matrix and human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (in vitro study) [Текст]/ V.A. Surguchenko, A.S. Ponomareva, L.A. Kirsanova, N.N. Skaleckij, V.I. Sevastianov // J. Biomed. Mater. Research. – 2014. – № 102 (3). DOI: 10.1002/jbm.a.35197.
17. **Tomilina N.** The dialysis outcomes and practice patterns study (DOPPS) in Russia: study design and initial comparisons with the Russian RRT registry [Текст] / N. Tomilina, B. Bikbov, A. Andrusev, A. Zemchenkov, B. Bieber, B.M. Robinson, R.L. Pisoni // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2014. – Vol. 29. – Suppl. 3. – P. 519.
18. **Vasilets V., Popov V., Nemets E.A., Sevastianov V.I., V.A., Barz J., Kleinhans C., Oehr C.** Plasma treatment of polylactide containing scaffolds for tissue engineering application. PO 4013 // Abstracts of 14th International Conference on Plasma Surface Engineering (PSE 2014), Germany, garmisch-Partenkirchen. – 2014. – P. 15–19.

ООО «Издательство «Триада»
ИД № 06059 от 16.10.01 г.
170034, г. Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 504,
тел./факс (4822) 429022, 354130
E-mail: triadatver@yandex.ru
http://www.triada.tver.ru

Подписано к печати 05.05.2015 г.
Формат 70×100 $^{1}/_{16}$. Усл. печ. л. 28
Бумага офсетная. Печать офсетная
Гарнитура Times New Roman. Тираж 1000 экз.

Заказ

Отпечатано в соответствии
с предоставленными материалами
в ООО «ИПК Парето-Принт», г. Тверь
www.pareto-print.ru