

*На правах рукописи*

КУЗЬМИН ДЕНИС ОЛЕГОВИЧ

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ  
У ПОСМЕРТНЫХ ДОНОРОВ ПОЧЕК**

3.1.14 – трансплантология и искусственные органы

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ – 2023

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждении «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе».

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук, профессор

**Резник Олег Николаевич**

**Официальные оппоненты:**

**Зулькарнаев Алексей Батыргараевич** – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник хирургического отделения трансплантологии и диализа, профессор кафедры трансплантологии, нефрологии и искусственных органов Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского».

**Герасимова Ольга Анатольевна** – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник группы трансплантационной хирургии отдела интервенционной радиологии и оперативной хирургии, руководитель амбулаторного центра трансплантологии, гепатологии и нефрологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «21» декабря 2023 года в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета ДСТИО 001.21 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России по адресу: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, а также на сайте <http://transpl.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета ДСТИО 001.21

Кандидат ветеринарных наук

**Волкова Елена Алексеевна**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ**

Трансплантация является радикальным хирургическим методом лечения пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности. Пересадка почки представляет собой преимущественный метод лечения и обеспечивает лучшую выживаемость по сравнению с долгосрочным диализным лечением, а также предпочтительнее с точки зрения качества жизни реципиента [Chen H. F. et al., 2021]. По мнению некоторых авторов, трансплантация почки – единственный шанс больного с терминальной стадией поражения почек вернуться к полноценной жизни [Шабунин А. В. и др., 2022].

Традиционно основным источником донорских органов являются доноры с установленным диагнозом смерти головного мозга, органы которых считаются идеальными [Bera K. D. et al., 2020]. Однако растущий дефицит донорских органов послужил причиной использования для пересадки трансплантатов, полученных от доноров с расширенными критериями [Резник О. Н. и др., 2013; Helfer M. S. et al., 2014]. Данную категорию доноров раньше можно было расценивать как дополнительный ресурс трансплантации, однако на сегодняшний день он становится основным [Florman S. et al., 2018]. Согласно мнению большинства авторов для пересадки почек от доноров с расширенными критериями характерно развитие более выраженного ишемически-реперфузионного повреждения [Mannon R. B., 2018]. Оно вызвано нестабильностью гемодинамики у доноров с расширенными критериями и, как следствие, в таких почках развивается сложный комплекс событий, который характеризуется более тяжёлым течением острой почечной недостаточности трансплантата, обусловленной острым канальцевым некрозом и более выраженной частотой кризов отторжения [Messina M. et al., 2018].

Учитывая эти обстоятельства, отсроченная функция трансплантата является самым распространенным клиническим феноменом после трансплантации почек от доноров со смертью мозга [Heilman R. L. et al., 2016]. Отсроченная функция относится к острому повреждению почек, которое требует проведения сеансов гемодиализа реципиенту в первые 7 суток и более после трансплантации. По данным литературы отсроченная функция трансплантата ассоциируется с более высокой частотой отторжений и худшими краткосрочными и долгосрочными результатами, в связи с чем актуальность данной проблемы чрезвычайно высока [Bahl D. et al., 2019].

Необходимо отметить, что фактором риска развития отсроченной функции и главной её причиной является ишемически-реперфузионное повреждение почек ещё на доэксплантационном этапе в организме посмертного донора. Механизм развития последствий данного повреждения включает в себя участие лейкоцитов и высвобождение медиаторов воспаления через эндотелиальные клетки, повышающие уровень молекул клеточной адгезии [Lee J. et al., 2017]. Таким образом, ишемически-реперфузионное повреждение трансплантата почки способствует увеличению продолжительности пребывания пациента в стационаре и уменьшению выживаемости трансплантата [Zhao H. et al., 2018].

При существующем дефиците донорских органов и всё более широком использовании субоптимальных трансплантатов, особое значение получают попытки выработки стратегий, направленных на минимизацию ишемически-реперфузионного повреждения.

В связи с вышеизложенным создание новых методов лечения и инструментов для эффективной борьбы с ишемически-реперфузионным повреждением и предотвращения отсроченной функцией трансплантата остается нерешённой проблемой. В этом отношении разработка и внедрение способа терапевтической коррекции лейкоцитарной агрессии у посмертного донора с применением средств элиминации лейкоцитов до проведения эксплантации может являться многообещающей перспективой.

Предупреждение последствий ишемически-реперфузионного повреждения почек у доноров со смертью мозга – наиболее обсуждаемая проблема в современной трансплантологии [Nieuwenhuijs-Moeke G. J. et al., 2020; Sánchez-Hernández C. D. et al. 2020; Vishwakarma V. K. et al., 2017]. Процессы восстановления происходят одновременно с клеточным апоптозом и некрозом в ткани почек, а судьба пересаженного органа зависит от того, что в этом случае преобладает – гибель клеток или регенерация [Wu J. et al., 2014]. Современными авторами этот сложный процесс и был описан как ишемия-реперфузия [Zhao H. et al., 2018]. В своём исследовании Peters-Sengers H. et al. (2019) подчёркивают, что ишемия-реперфузия оказывает глубокое влияние не только на раннюю, но и на позднюю функцию пересаженной почки. В соответствии с этим, профилактика последствий ишемически-реперфузионного повреждения почек должна происходить до трансплантации путем предварительного воздействия ещё в организме донора со смертью мозга [Nieuwenhuijs-Moeke G. J. et al., 2020].

В национальных клинических рекомендациях «Посмертное донорство органов» (2013) введён термин «кондиционирование донора», обозначающий процесс коррекции показателей гомеостаза донора со смертью мозга с целью сохранения органов для трансплантации. Основным подходом в улучшении результатов трансплантации является гемодинамическая коррекция, коррекция гиповолемии, контроль гликемии и температуры тела, применение глюкокортикостероидных гормонов, использование определённых параметров искусственной вентиляции у посмертного донора [Ватазин А. В., Артемов Д. В., Зулькарнаев А. Б., 2019].

В целом же, важнейший донорский этап, от которого напрямую зависит результат пересадки органов представлен арсеналом терапевтических опций, направленных на поддержание перфузии и оксигенации органов и тканей, которые, однако, все ещё остаются компромиссом между желательным эффектом и клинической реальностью. Поиск путей решения клинических проблем, вызванных лейкоцитарной агрессией в организме донора со смертью мозга на доэксплантационном этапе, предупреждение последствий ишемически-реперфузионного повреждения, как основной причины отсроченной функции трансплантатов почек, определили дизайн настоящего исследования.

## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Улучшение результатов трансплантаций почек за счёт применения поликлональных антител у посмертных доноров.

## **ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. Разработать протокол применения поликлональных антител для элиминации лейкоцитов из системы кровообращения у доноров органов с установленной смертью мозга.

2. Обосновать целесообразность создания в структуре подразделений пересадки органов трансплантационных биобанков для ретроспективной верификации результатов применения разработанного протокола.
3. Провести сравнительный анализ результатов иммуногистохимического исследования биоптатов трансплантатов почек, полученных от посмертных доноров с применением поликлональных антител и без таковых, используя клинические и морфологические данные коллекции биобанка.
4. Провести сравнительный анализ течения послеоперационного периода у реципиентов почек, полученных от посмертных доноров с применением поликлональных антител и без таковых.
5. Оценить пятилетние результаты пересадки почек, полученных от посмертных доноров с применением поликлональных антител и без таковых.

### **НАУЧНАЯ НОВИЗНА**

Предложен новый протокол медикаментозной коррекции ишемически-реперфузионного повреждения почек, полученных от доноров со смертью мозга.

Впервые показано, что в результате применения поликлональных антител происходит элиминация лейкоцитов из системы кровообращения у доноров со смертью мозга и снижение уровня экспрессии молекул клеточной адгезии эпителия на эндотелии сосудов трансплантатов почек.

Обоснована целесообразность создания биобанков в отделениях трансплантации, как средства накопления, хранения и предоставления материала и данных для ретро- и проспективной оценки результатов пересадок почек.

### **ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ**

Доказана эффективность применения иммуносупрессивных препаратов у доноров со смертью мозга после прохождения апноэтического теста на предэксплантационном этапе для улучшения ранних и отдаленных результатов пересадки почки.

Впервые созданный в процессе исследования трансплантационный биобанк демонстрирует целесообразность формирования криобиотических коллекций в отделениях трансплантации на региональном и федеральном уровнях для возможности ретро- и проспективной оценки трансплантированных органов и результатов лечения реципиентов.

Результаты исследования показывают необходимость продолжения научного поиска в области применения антител у посмертных доноров со смертью мозга и сотрудничества с фармкомпаниями в области создания отечественных поликлональных антител на основании коллекций трансплантационных биобанков.

### **МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В исследование включены клинические данные доноров со смертью мозга и реципиентов почек, полученных от этих доноров, данные общих клинических анализов крови, биохимических анализов крови, данных определения уровня NGAL в моче у доноров, морфологических исследований нефробиоптатов.

## **ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ**

1. Применение поликлональных антител на предэксплантационном этапе является эффективным способом элиминации лейкоцитов из системы кровообращения у доноров с установленной смертью мозга.

2. Создание трансплантационного биобанка в учреждении, выполняющем пересадки органов, является целесообразным для ретро- и проспективной оценки результатов лечения и оценки патофизиологических механизмов и процессов у посмертных доноров.

3. Использование предложенного протокола применения поликлональных у доноров со смертью мозга приводит к лучшим результатам пересадок почек, чем при трансплантации от посмертных доноров без такового, что подтверждается увеличением числа случаев немедленной функции трансплантатов почек, более низкой концентрацией креатинина сыворотки крови и лучшей пятилетней выживаемостью трансплантатов.

## **СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Достоверные статистические результаты получены с помощью сбора и анализа данных проведённых исследований (в исследование включён анализ медицинских карт 20 доноров с установленным диагнозом смерть головного мозга и анализ лечения 40 реципиентов почек, полученных от этих доноров).

Тема диссертационного исследования одобрена локальным этическим комитетом (протокол №2 от 15.03.2017 г.), утверждена на Учёном совете Государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе» (протокол №6 от 29.09.2022 г.), проблемной комиссией (заседание №2 от 18.10.2022 г.).

Апробация диссертации состоялась 27.06.2023 года на заседании научного отдела трансплантологии и органного донорства и межпроблемной комиссии Государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе» (протокол №3). Обсуждение материалов и результатов диссертационного исследования состоялось на следующих конференциях: конкурс научно-технических проектов молодых исследователей. «У.М.Н.И.К.» ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (Фонд содействия инновациям) – 2015 год, Санкт-Петербург, конкурс лучших инновационных проектов в сфере науки и высшего образования Санкт-Петербурга Комитета по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга – 2018 год, Санкт-Петербург; VII Научно-практическая международная конференция: «Современные биотехнологии для науки и практики» – 2020 год, Санкт-Петербург, конкурс научно-исследовательских проектов «Молодые, дерзкие, перспективные» Комитета по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга – 2021 год, Санкт-Петербург, XXXVII Международная конференция «Горизонты современной ангиологии, сосудистой хирургии и флебологии» – 2022 год, Кисловодск, XX Северо-Западная нефрологическая школа Российского диализного общества – 2022 год, Санкт-Петербург, XI Всероссийский съезд трансплантологов, 11-ая Всероссийская конференция «Научные школы и новые имена» – 2022 год, Москва.

## **ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКУЮ РАБОТУ**

Основные положения и выводы диссертации внедрены в клиническую практику Отдела трансплантологии и органного донорства Государственного бюджетного учреждения «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе» и Отдела трансплантологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург.

### **ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРА**

Автор принимал участие в формировании цели, задач исследования, проведении анализа литературы, сборе клинических и инструментальных параметров, внесенных в базу данных, а также лично автором выполнена статистическая обработка полученных результатов и осуществлен медико-статистический анализ полученных результатов.

Автор лично участвовал в оперативных вмешательствах по эксплантации почек от ДСМ и пересадках почек реципиентам.

Автор принимал участие в разработке концепции и организации материально-технической базы трансплантационного биобанка. Автором разработан алгоритм сбора биоматериала от ДСМ и реципиентов почек и изготовление из него биообразцов. Автор обеспечивал накопление уникальной коллекции биообразцов, произведённых по стандартизированной методике с соответствующей маркировкой и сопутствующими клиническими данными. Автором осуществлялся контроль надлежащего хранения и использования для лабораторных и морфологических исследований биообразцов из трансплантационного биобанка.

### **ПУБЛИКАЦИИ**

На основании изученных и полученных диссертантом данных опубликовано 8 научных работ, среди них 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах данных, в том числе 2 статьи в изданиях включённых в Перечень рецензируемых научных изданий ФГБУ НМИЦ ТИО им. ак. В.И. Шумакова» Минздрава России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учебной степени кандидата наук.

### **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА РАБОТЫ**

Диссертационное исследование написано на 129 страницах машинописного текста и содержит введение, шесть глав, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и список использованной литературы, включающий в себя 165 библиографических источников, из которых 17 отечественных и 148 зарубежных. Работа содержит 8 таблиц, 57 рисунков и 4 формулы.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

#### **Общая характеристика материала**

Диссертационное исследование выполнено на основе материала, полученного в процессе ретроспективного и проспективного анализа клинических наблюдений 20 доноров с установленным диагнозом «смерть головного мозга» (ДСМ) и 40 реципиентов почек, полученных от этих ДСМ. В ходе проведённого анализа в соответствии с задачами исследования сформированы группы доноров и реципиентов. Вся группа ДСМ была разделена на 2 выборки: 10 ДСМ, которым на доэксплантационном этапе вводился препарат поликлональных антител (ПКАТ) – исследуемая группа, 10 ДСМ без применения ПКАТ – группа сравнения. Эксплантация почек выполнялась у ДСМ обеих групп в следующих стационарах: Научно-исследовательский институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Мариинская больница, Александровская больница, Елизаветинская больница, Городская больница №26, Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А. Л. Поленова (Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова) в 2017–2018 годах.

Реципиенты почек в зависимости от вида полученного трансплантата от вышеуказанных ДСМ были разделены на 2 выборки: 20 реципиентов почек, полученных от ДСМ, которым на доэксплантационном этапе вводились ПКАТ, вошли в исследуемую группу и 20 реципиентов почек, полученных от ДСМ без применения ПКАТ, – в группу сравнения. Пациентам выполнялись трансплантации почки одной бригадой хирургов в НИИ СП им. И.И. Джанелидзе и ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в 2017–2018 годах. Реципиентами почек стали пациенты с терминальной почечной недостаточностью, получающие заместительную почечную терапию методом программного гемодиализа.

#### **Сравнительные характеристики доноров группы сравнения и доноров исследуемой группы**

У 10 доноров группы сравнения применялся обычный протокол эксплантации и последующей заготовки почек. Эксплантация осуществлялась по стандартной методике, перфузия проводилась раствором Кустодиол объёмом 12 литров, скорость потока составляла 100 мл/мин.

В исследуемую группу вошли 10 доноров, операциям эксплантации у которых предшествовало введение препарата ПКАТ Тимоглобулин. После первичного осмотра ДСМ из исследуемой группы и принятия решения о планируемой эксплантации почек, выполнялось введение Тимоглобулина. Протокол введения поликлональных антител является авторской разработкой и подробно представлен ниже в результатах исследования.

Исследуемая группа ДСМ, трансплантаты, полученные от этих ДСМ, результаты операций пересадок этих почек, сравнивались с контрольной группой. Также сравнивался уровень лейкоцитов крови по данным клинических анализов ДСМ, выполненных до и спустя 6 часов после начала введения Тимоглобулина. Эксплантация и холодовая пассивная проточная перфузия почек осуществлялась по стандартной методике, аналогичной ДСМ из группы сравнения. Представленное в сводной таблице 1 сравнение статистического распределения нозологических форм заболеваний исследуемой и группы сравнения показывает, что статистически значимых различий по этому признаку в сравниваемых группах нет. Также не было статистически значимых различий по возрастному и половому признакам в составе групп доноров.



**Таблица 1 – Характеристика донорских групп**

Показатель		Исследуемая группа (n=10)	Группа сравнения (n=10)	p
Мужской пол, n (%)		7 (70%)	6 (60%)	0,999
Возраст, лет		42,5 [31,5; 49]	43,5 [27,25; 50]	0,796
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>		22,6 [21,5; 26,4]	23,5 [20,8; 26,8]	0,971
<b>Диагнозы:</b>	ЧМТ*	1 (10%)	2 (20%)	-
	ОНМК**	4 (40%)	4 (40%)	-
	АГМ***	5 (50%)	4 (140%)	-
<b>Доза вазопрессорной поддержки:</b> Дофамин, мкг/кг/мин)		4,75[3,45;5,25]	4,5 [3,725; 6]	0,971
Норадреналин, мкг/кг/мин		0,1 [0; 0,15]	0,1 [0,75; 0,13]	0,971
Лабораторные показатели:				
Креатинин, мкмоль/мл		83 [55; 91,5]	61 [54; 78,25]	0,218
Мочевина, ммоль/л		5,8 [4,5; 7,1]	4,35 [4,175; 6,1]	0,247
Доза Тимоглобулина, мг		567 [540; 662,5]	0 [0; 0]	0,000

\* ЧМТ – черепно-мозговая травма; \*\* ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; \*\*\* АГМ – разрыв аневризмы сосудов головного мозга

Таким образом, обе группы доноров были однородны и не имели статистически достоверных различий, которые могли бы повлиять на оценку результатов трансплантаций почек.

### Характеристики групп реципиентов

Реципиенты почек в зависимости от вида полученного трансплантата от вышеуказанных ДСМ были разделены на 2 подгруппы: 20 реципиентов вошли в исследуемую группу и 20 – в группу сравнения. Подбор пар донор-реципиент осуществлялся по группе крови, отрицательному лимфоцитотоксическому тесту («кросс-матч»), по HLA – A, B, Dr - антигенам. Иммунологические и серологические исследования выполнены в Городской лаборатории иммуногенетики и серодиагностики НИИ СП им. И.И. Джанелидзе. Пациентам выполнялись трансплантации почки одной бригадой хирургов в НИИ СП им. И.И. Джанелидзе и ПСПбГМУ им. И. П. Павлова в 2017–2018 годах. Реципиентами почек стали пациенты с терминальной почечной недостаточностью, получающие заместительную почечную терапию методом программного гемодиализа. В сводной таблице 2 представлены данные групп реципиентов.

**Таблица 2 – Характеристики групп реципиентов**

Показатель		Исследуемая группа (n=20)	Группа сравнения (n=20)	p
Мужской пол, n (%)		14 (70%)	11 (55%)	0,514
Возраст, лет		42 [31,2;49]	44 [36,5;48,75]	0,620
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>		24,09 [21,134;28,31]	23,9 [22,4;29,5]	0,461
<b>Диагноз</b>	ХГН*	15(75%)	15(75%)	-
	АДПП**	2(10%)	3(15%)	-
	ГБ III ст. ***	3(15%)	2(10%)	-
Стаж диализа, лет		4,5[3;5,75]	4[3;5,75]	0,741
ВХИ трансплантата, мин		465 [300;535]	480 [260;600]	0,841

\* ХГН – Хронический гломерулонефрит; \*\* АДПП – Аутосомно-доминантный поликистоз почек; \*\*\* ГБ III ст. – Гипертоническая болезнь III стадии

Различия по полу, возрасту, характеру заболевания в группах реципиентов не были статистически значимыми и не могли повлиять на оценку результатов пересадок почек.

### **Характеристики созданного в ходе исследования трансплантационного биобанка**

С 2015 года созданный на базе Санкт-Петербургского координационного центра органного донорства (СПБКЦОД) трансплантационный биобанк постоянно пополняется биологическими образцами, получаемых от эффективных доноров, реципиентов в раннем и позднем послеоперационных периодах и на этапе амбулаторного наблюдения. Каждому образцу присваивается уникальный идентификатор, образцы вносятся в электронную базу данных и сопровождаются исчерпывающим описанием, а также сопутствующей клинической информацией. Проводится «сквозная» нумерация образцов от донора к реципиенту. Образцы подвергаются аликвотированию и хранятся в соответствии с протоколом низкотемпературного хранения.

Биобанк представляет собой коллекцию биологических образцов и связанной с ними информации в доступной для анализа форме. На данный момент постоянно пополняемая коллекция биобанка насчитывает около 2000 образцов доступных для возможных исследований.

Для функционирования профессионального биобанка требуется квалифицированный сбор, обработка, характеристика и хранение образцов. Стандартизирована работа с документацией, базами данных, разработаны алгоритмы первичной обработки и хранения биообразцов, контроля надлежащего состояния проб.

Разработанный оригинальный протокол сбора биообразцов, а также подробное описание созданного трансплантационного биобанка будут подробно представлены в результатах исследования.

### **Протокол и процедура выполнения биопсии трансплантатов почек.**

#### **Протокол морфологического исследования биоптатов**

Материалом исследования послужили инцизионные биоптаты почечных трансплантатов, полученные во время эксплантации после холодной перфузии раствором Кустодиол.

Гистологическое исследование ткани почек выполнялось на базе Национального центра клинической морфологической диагностики (Санкт-Петербург) следующими методами:

- 1) Светооптическое исследование выполнено на парафиновых срезах с использованием следующих окрасок: гематоксилин-эозин, PAS-реакция.
- 2) Иммуногистохимическое исследование, выполненное иммунопероксидазным методом с использованием антител к молекуле клеточной адгезии эпителия (ЕpCAM).

#### **Статистическая обработка данных**

Математико-статистическая обработка данных исследования осуществлена с помощью табличного редактора Excel, в частности, его модулей «Анализ данных» и «Мастер диаграмм» и пакета прикладных программ Statistica for Windows.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### **Разработка протокола применения поликлональных антител у доноров со смертью мозга при трансплантации почек**

На заседании локального этического комитета при Санкт-Петербургском научно-исследовательском институте скорой помощи им. И.И. Джанелидзе от 15 марта 2017 года одобрено исследование «Применение поликлональных антител у доноров со смертью мозга при пересадке почек» и разрешена его дальнейшая разработка на базе ГБУ «СПб НИИ Скорой помощи им. И.И. Джанелидзе», что и сделало возможным решение первой задачи исследования.

В исследовании использовался препарат поликлональных антител Тимоглобулин (Thymoglobulin) производства Джензайм Поликлоналс С.А.С. (Франция) (Genzyme Polyclonals, S.A.S.). В официальной инструкции сказано, что через 1 сутки после введения у пациента развивается глубокая лейкопения и лимфопения (снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов более чем на 50% по сравнению с исходным значением). Согласно стандартным рекомендациям, диапазон режима дозирования препарата составляет от 1 до 5 мг/кг/сутки в зависимости от показаний.

В ходе настоящего исследования в первом случае было принято эмпирическое решение о введении препарата в дозировке, в три раза превышающую официальную терапевтическую. В этой пробе не наблюдалось значимого снижения уровня лейкоцитов в клиническом анализе крови через 6 часов после введения препарата по сравнению с исходной точкой до введения. Такая дозировка оценена как недостаточная и неэффективная.

Во втором случае доза препарата была увеличена в пять раз. На втором часу наблюдения у ДСМ, отмечается серьёзное нарушение гемодинамических показателей со снижением АД до 70 и 50 мм рт. ст. по данным мониторинга. Каких-либо других причин, повлекших такие изменения, кроме как введение Тимоглобулина в указанной выше дозировке, выявлено не было. Состояние ДСМ было стабилизировано путём увеличения дозы вазопрессорной поддержки, а введение Тимоглобулина прекращено. Данное событие трактовано как серьёзный побочный эффект от введения препарата вследствие пятикратного увеличения дозы. Такая дозировка была расценена как избыточная и недопустимая по причине развития выраженной сердечно-сосудистой недостаточности у ДСМ.

Учитывая данные выполненных ранее проб и полученные при этом неудовлетворительные результаты, имеющееся ограничение по времени на введение препарата ДСМ (соответствует временному отрезку, требующегося на процедуру диагностики смерти мозга у донора), было принято о четырёхкратном увеличении дозы Тимоглобулина по сравнению со стандартным режимом дозирования для достижения максимальной редукции количества мобилизованных лейкоцитов.

После первичного осмотра ДСМ бригадой в составе анестезиолога-реаниматолога и хирурга КЦОД, а также трансплантационного координатора стационара и принятия решения о начале процедуры диагностики смерти головного мозга и планировании эксплантации почек, препарат Тимоглобулин вводился в организм донора в течение 6 часов в 4-кратной терапевтической дозе. Дозировка препарата составила 8 мг/кг массы тела.

### Оценка влияния истощающих поликлональных антител на лабораторные показатели у доноров со смертью мозга при кондиционировании в доэксплантационном периоде

При оценке количества лейкоцитов у ДСМ исследуемой группы до и после введения Тимоглобулина обнаружена статистически значимая взаимосвязь ( $p < 0,001$ ) в отношении эффекта от введения Тимоглобулина абсолютного значения нейтрофилов ( $p=0,02$ ), моноцитов ( $p=0,002$ ), тромбоцитов ( $p=0,023$ ). В то время как относительное значение нейтрофилов и лимфоцитов не имели статистической зависимости ( $p > 0,05$ ).

#### Сравнение результатов лабораторных исследований у доноров исследуемой и контрольной групп

Развёрнутый клинический анализ крови у ДСМ выполнялся перед введением препарата Тимоглобулин непосредственно перед началом холодной перфузии.

По данным проведенного сравнения результатов клинического анализа крови групп: в исследуемой группе после введения Тимоглобулина наблюдалась устойчивая лейкопения (нейтропения и лимфопения)  $1,5 \pm 0,18 \times 10^9/\text{л}$  (рисунок 1, таблица 3), тогда как в группе сравнения отмечался лейкоцитоз  $11,3 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$  (рисунок 2).

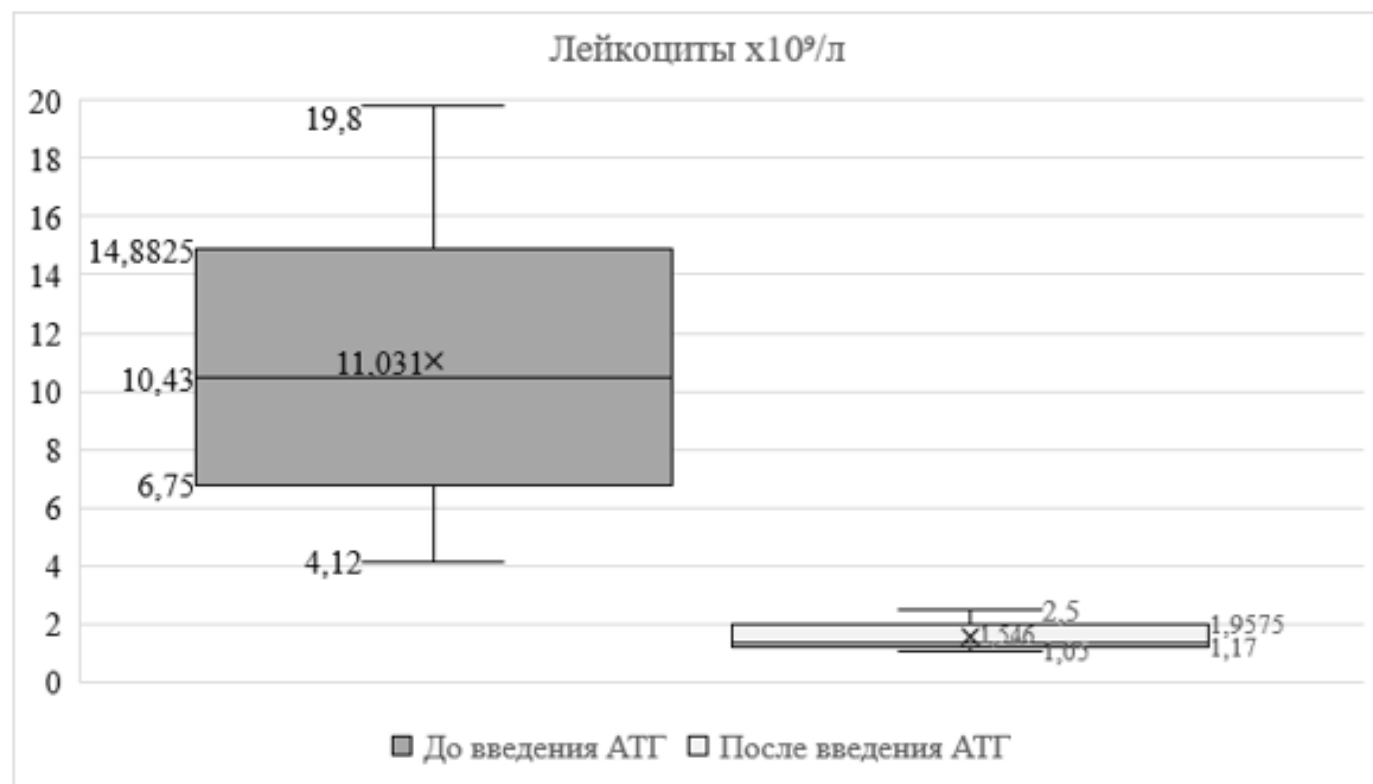
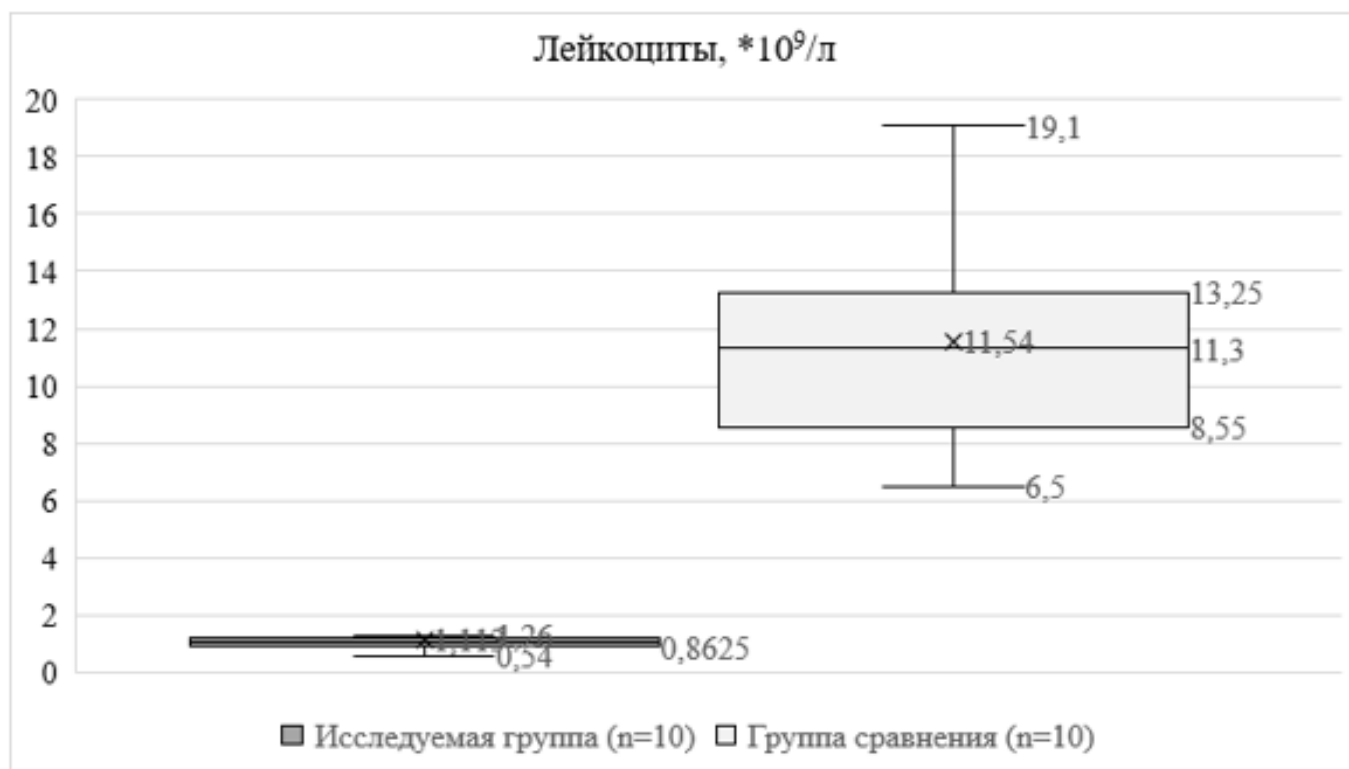
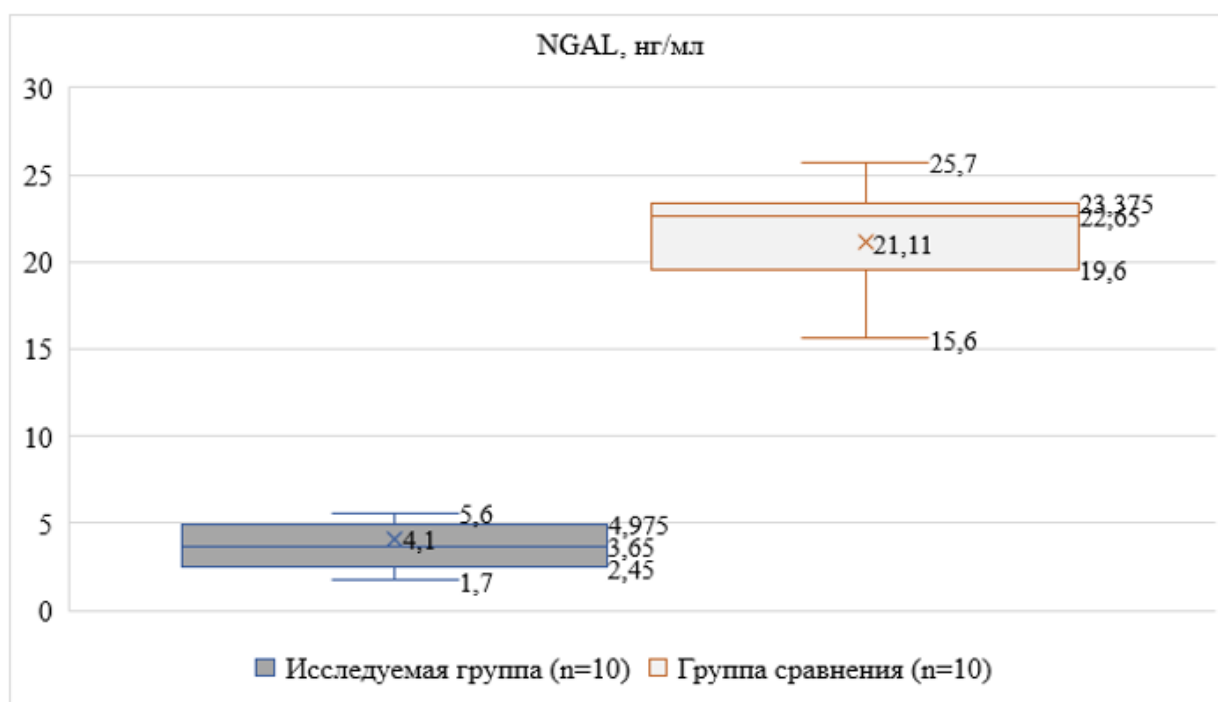


Рисунок 1 – Количество лейкоцитов крови у доноров со смертью мозга в исследуемой группе до и после введения АТГ (Антимоцитарного глобулина, Тимоглобулина,  $\times 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ ))



**Рисунок 2 – Количество лейкоцитов крови у доноров со смертью мозга исследуемой группы и группы сравнения,  $\cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,05$ )**

В рамках оценки эффективности применения разработанного протокола введения Тимоглобулина ДСМ, выполнено ретроспективное лабораторное исследование биобразцов мочи. Согласно полученным данным в моче у ДСМ контрольной группы определяется значительно более высокий уровень Липокалина (NGAL) по сравнению с ДСМ исследуемой группы (рисунок 3, таблица 3).



**Рисунок 3 – Концентрация NGAL (Липокалина, связанный с нейтрофильной желатиназой) в моче у доноров со смертью мозга исследуемой и контрольной группы, нг/мл ( $p < 0,05$ )**

**Таблица 3 – Лабораторные показатели донорских групп перед эксплантацией почек**

<b>Показатель</b>	<b>Исследуемая группа (n=10)</b>	<b>Группа сравнения (n=10)</b>	<b>p</b>
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,035 [0,82; 1,21]	11,3 [8,2; 14,1]	0,001
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,1 [0,05; 0,37]	9 [4,1; 12]	0,02
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,05 [0,01; 0,1]	0,6 [0,4; 0,8]	0,002
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	90 [65; 150]	210 [180; 420]	0,023
NGAL*, нг/мл	3,65 [2,13; 5,22]	22,65 [18,15; 23,8]	0,001

\*NGAL – Липокалин, связанный с нейтрофильной желатиназой

Предложенный нами способ терапевтического применения препарата, традиционно используемого только для лечения стероидрезистентных кризов отторжения у реципиентов, представляется эффективным методом улучшения качества почечных трансплантатов, за счет «выключения» лейкоцитарного звена ИРП, что по нашей гипотезе может привести к лучшим долгосрочным результатам трансплантаций.

### **Формирование трансплантационного биобанка**

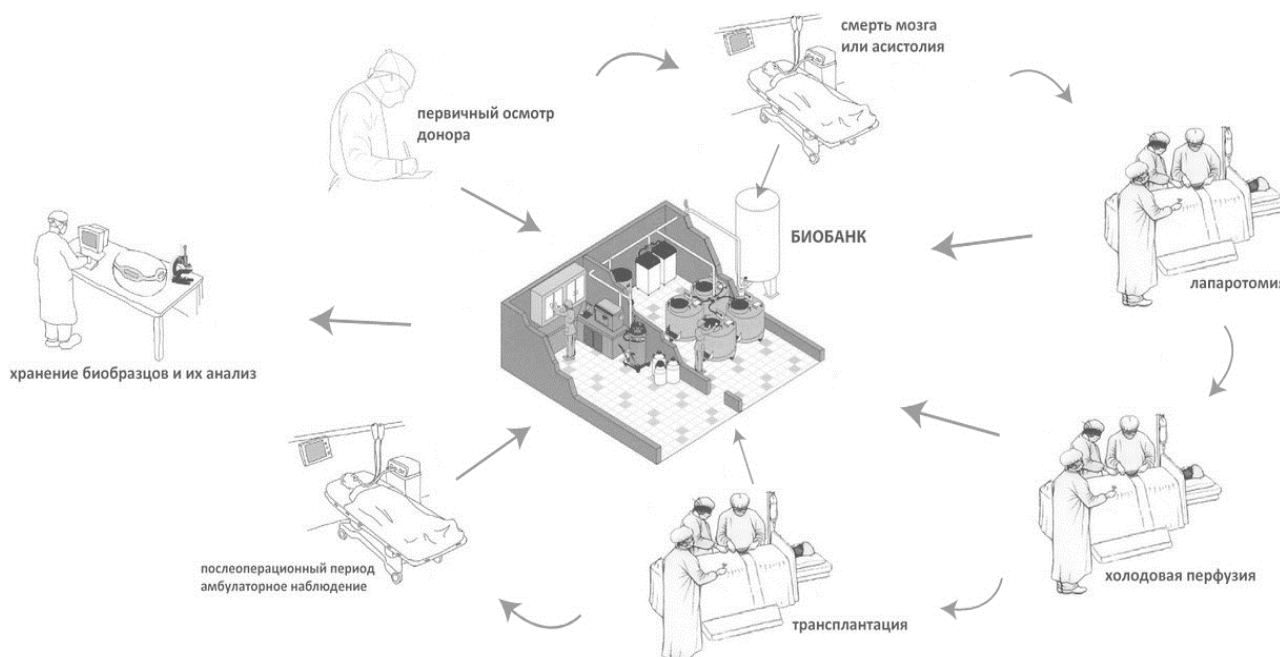
Для решения комплексных задач в клинической трансплантологии, возможности выполнения ретроспективных исследований и, в частности, для решения второй задачи исследования – верификации клинических данных при пересадке почек от ДСМ с применением поликлональных антител на базе СПбКЦОД НИИ СП им. И.И. Джанелидзе был создан трансплантационный биобанк. Проект «Создание исследовательского многофункционального биобанка» был поддержан Фондом содействия инновациям и является победителем конкурса «У.М.Н.И.К.» от 2015 года, номер договора 6643ГУ/2015. Распоряжением Комитета по науке и высшей школе от 11.10.2018 № 141 на основании Решения Совета конкурса лучших инновационных проектов в сфере науки и высшего образования Санкт-Петербурга от 21.09.2018 утверждён проект авторского коллектива НИИ СП им. И.И. Джанелидзе «Создание биобанка для изучения ишемии-реперфузии». Научно-исследовательский проект «Создание трансплантационного биобанка» является финалистом конкурса «Молодые, дерзкие, перспективные» Комитета по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга от 2021 года.

Созданный трансплантационный биобанк представляет собой коллекцию биологических образцов и связанной с ними информацией в доступной для анализа форме. Биобанк содержит более 2 тысяч образцов, представленных биопсиями органов (почка, печень, селезёнка), тканей (жировая клетчатка, бурый жир), сыворотками крови, лейкоцитарным центрифугатом, мочой, полученных от мультиорганных эффективных доноров и реципиентов почечных трансплантатов. Таким образом мы можем отследить состояние трансплантируемого органа по данным биопсий от «донорского» этапа и на последующих этапах после пересадки.

Описанная выше «сквозная» структура биобанка, где каждый биобразец, полученный от реципиента логистически и информационно связан с соответствующим донорским образцом, позволяет проводить ретроспективную оценку состояния трансплантируемого органа по данным гистологического исследования биоптата. Функциональное связующее звено позволяет выполнять цитологический анализ проб по запросу, отслеживать данные

лабораторно-инструментальных исследований по цепочке «донор – реципиент», оценивать причину или вероятность иммунологического конфликта. Такая логистическая цепочка позволяет прогнозировать срок функционирования, оценить изначальный ресурс трансплантата, вводить новые критерии пригодности, продемонстрировать и доказать действие новых способов коррекции ИРП.

Для функционирования профессионального биобанка требуется квалифицированный сбор, обработка, характеристика и хранение образцов. Стандартизирована работа с документацией, базами данных; разработаны алгоритмы первичной обработки и хранения биообразцов, контроля надлежащего состояния проб. В преаналитическом этапе осуществляется сбор и заморозка образцов на месте для исключения потери лабильных компонентов. Алгоритм сбора образцов представлен на рисунке 4.



**Рисунок 4 – Алгоритм сбора биообразцов**

Образцы подвергаются аликвотированию. После изготовления биообразцов криопробирки помещаются для фиксации, временного хранения и транспортировки в ёмкость с жидким азотом ( $t -195\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Для постоянного длительного хранения используется низкотемпературный холодильник ( $t -85-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Разработан алгоритм создания штрихкода биообразцов, подробное описание которого будет представлено ниже.

Протокол и общая схема сбора биообразцов включает в себя:

1. Наполнение ёмкости для транспортировки биообразцов жидким азотом (40 литров) из сосуда Дьюара
2. Внесение информации о доноре в базу данных Freezer Pro: диагноз, анамнез, данные лабораторных анализов и инструментальных исследований. Каждому донору присваивается индивидуальный номер и штрих-код.
3. Присвоение индивидуального идентификатора биообразцам с внесением в базу данных: печать этикеток со штрих-кодами на портативном принтере и их нанесение на криопробирки (56 шт.). Упаковка криопробирок в штативы для хранения (2 шт).

4. После установления диагноза «Смерть головного мозга» начинается сбор биообразцов: моча (5 криопробирок), кровь из подключичной вены: получаемые из неё производные после центрифугирования в течение 15 минут при скорости 3 тысячи оборотов в минуту – сыворотка (10 криопробирок), лейкоцитарный центрифугат (4 криопробирки).

5. После выполнения лапаротомии осуществляется забор крови из магистральных сосудов, биообразцы получают из неё после центрифугирования в течение 15 минут при скорости 3 тысячи оборотов в минуту – лейкоцитарные центрифугаты крови аорты (3 криопробирки), нижней полой вены (4 криопробирки), воротной вены (3 криопробирки).

6. До начала холодовой перфузии выполняется сбор биоптатов почек и печени (по 5 криопробирок).

7. После холодовой перфузии повторяется сбор биоптатов почек и печени (по 5 криопробирок).

8. После выполнения эксплантации выполняется сбор ткани бурого жира (4 криопробирки) и селезёнки (3 криопробирки).

После изготовления криопробирки с биообразцами помещаются для временного хранения и транспортировки в ёмкость с жидким азотом (-195 °С). Для постоянного хранения используется низкотемпературный холодильник (- 85–90 °С).

Разработан алгоритм создания штрихкода биообразцов (рисунок 5).



**Рисунок 5 – Приведён пример штрихкода биообразца**

В данном примере используется восьмизначный код, где первые две цифры являются двумя первыми цифрами календарного года (17), третья, четвёртая, пятая цифры – номер мультиорганного донора в текущем году (№001), шестая и седьмая цифры индивидуальный номер типа биообразца (01), восьмая цифра – контрольная (рассчитывается автоматически по алгоритму Modulo 10 для штрих-кодов).

Нумерация для различных типов биообразцов:

- 01 – моча до лапаротомии
- 02 – сыворотка крови из центральной вены до лапаротомии
- 03 – лейкоцитарный центрифугат крови из подключичной вены до лапаротомии
- 04 – лейкоцитарный центрифугат крови из воротной вены после лапаротомии
- 05 – лейкоцитарный центрифугат крови из аорты после лапаротомии
- 06 – лейкоцитарный центрифугат крови из нижней полой вены после лапаротомии



- 07 – биоптат печени до холодовой перфузии
- 08 – биоптат почки до холодовой перфузии
- 09 – биоптат печени после холодовой перфузии
- 10 – биоптат почки до холодовой перфузии
- 11 – биоптат бурого жира после эксплантации
- 12 – биоптат селезёнки после эксплантации

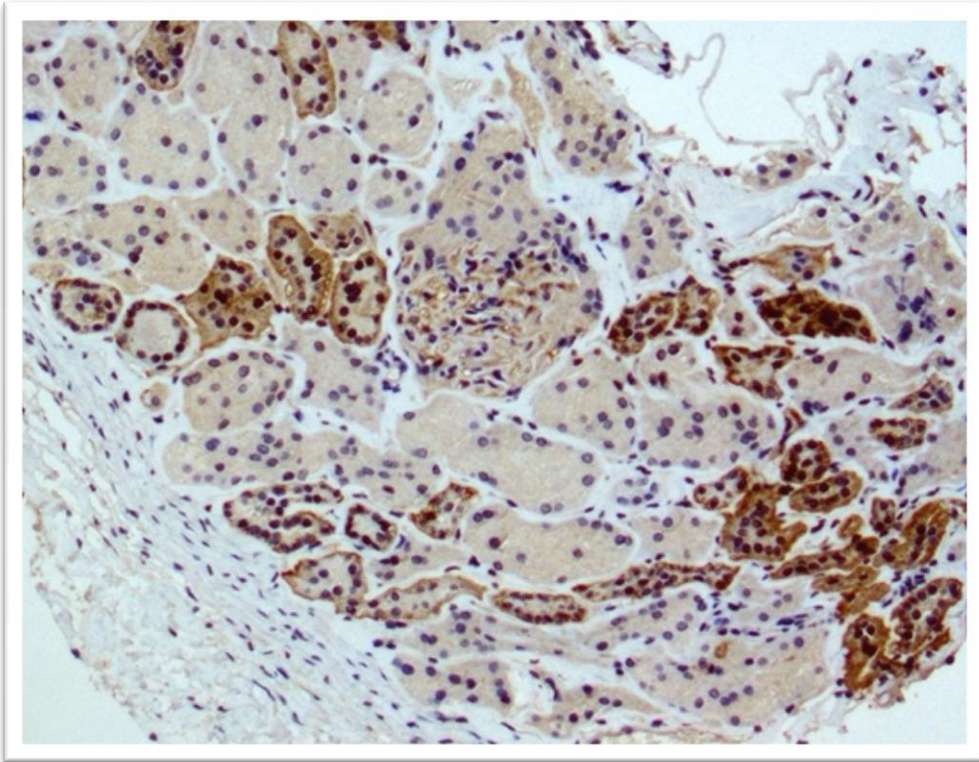
Созданный в ходе выполняемого исследования трансплантационный биобанк позволил в полном объёме выполнить задачи настоящего исследования. Как было ранее сказано, в условиях выполнения эксплантаций у ДСМ на «донорских базах» существуют определённые особенности этого процесса, связанные как с существующими временными ограничениями, так и лимитированным материально-техническим обеспечением стационара. По названным причинам в данных условиях выполнение целого ряда научных исследований представляется затруднительным, поэтому преимущество их выполнения в ретроспективном варианте не вызывает сомнений.

Кроме того, использование ранее заготовленных и накопленных в коллекции биообразцов позволило выполнить ретроспективное гистоморфологическое исследование нефробиоптатов трансплантатов, о чем далее и пойдёт речь.

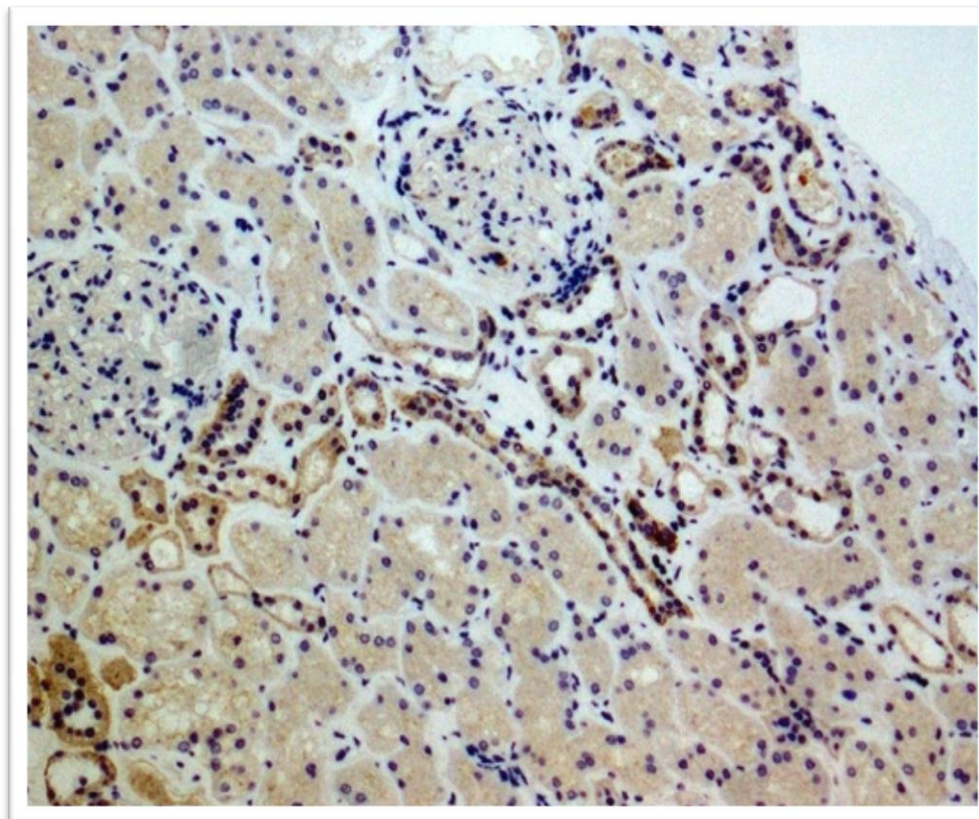
### **Оценка результатов гистоморфологических исследований**

Для решения третьей задачи – подтверждения эффективности применения ПКАТ у ДСМ – было выполнено гистоморфологическое исследование инцизионных биоптатов трансплантатов почек. Оценка гистоморфологических данных, свидетельствующих о полученном ишемическом повреждении, проводилась по наличию положительной экспрессии молекул клеточной адгезии эпителия (Epithelial cell adhesion molecule; ЕpСАМ) на эндотелии капилляров клубочков. Молекулы ЕpСАМ экспрессируются на мембране эпителиальных почечных клеток, где они участвует в клеточных и межклеточных взаимодействиях [Huang L. et al., 2018]. Степень экспрессии ЕpСАМ значительно увеличивается в процессе восстановления почечной ткани и коррелирует с тяжестью последствий ИРП. Регенерация ткани трансплантата требует очень высокого уровня экспрессии ЕpСАМ для развития процессов клеточной пролиферации, миграции и дифференцировки, что было подробно рассмотрено в работе Keller L. et al (2019). Предполагается, что длительная и массивная экспрессия ЕpСАМ ассоциирована с его тропностью к процессам пролиферации и адгезии клеток, что наблюдается после ИРП. Таким образом, регуляция экспрессии ЕpСАМ прямо связана с потребностью в регенерации почечной ткани.

В биоптатах трансплантатов почек от ДСМ группы сравнения светооптическое исследование материала продемонстрировало сохранную гистоархитектонику почечной паренхимы. Иммуногистохимическое исследование показало положительную экспрессию ЕpСАМ на эндотелии капилляров клубочков и ее отсутствие в других структурах ткани почки (рисунки 6 и 7).



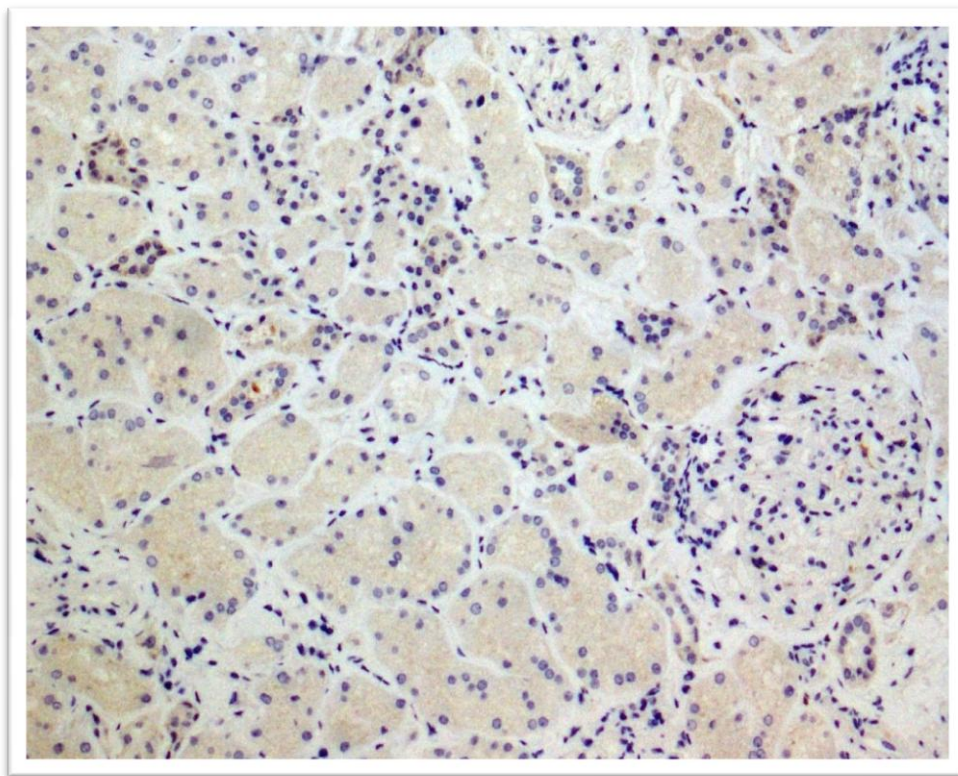
*Рисунок 6 – Иммуногистохимическое исследование «нулевых» биоптатов трансплантатов почек от донора М., 37 лет группы сравнения. Положительная экспрессия ErSAM на эндотелии капилляров клубочков. Иммунопероксидазная реакция; увеличение x100*



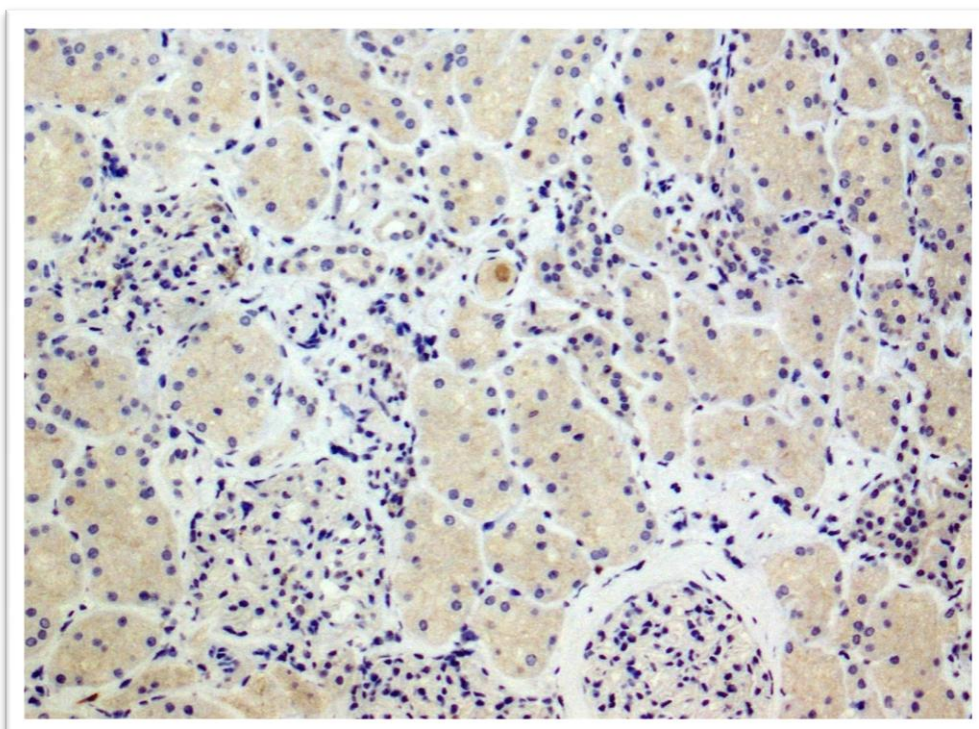
*Рисунок 7 – Иммуногистохимическое исследование «нулевых» биоптатов трансплантатов почек от донора Е., 30 лет группы сравнения. Положительная экспрессия ErSAM на эндотелии капилляров клубочков. Иммунопероксидазная реакция; увеличение x100*



По данным исследования биоптатов трансплантатов почек от ДСМ исследуемой группы на светооптическом уровне гистологическая картина осталась прежней. Иммуногистохимическое исследование, в свою очередь, продемонстрировало изменение экспрессии ЕрСАМ, а именно полное отсутствие таковой во всех структурах ткани почки, в том числе, на эндотелии капилляров клубочков (рисунки 8 и 9).



**Рисунок 8 – Иммуногистохимическое исследование «нулевых» биоптатов трансплантатов почек от донора П., 33 лет исследуемой группы. Отсутствие экспрессии ЕрСАМ во всех структурах ткани почки. Иммунопероксидазная реакция; увеличение x100**

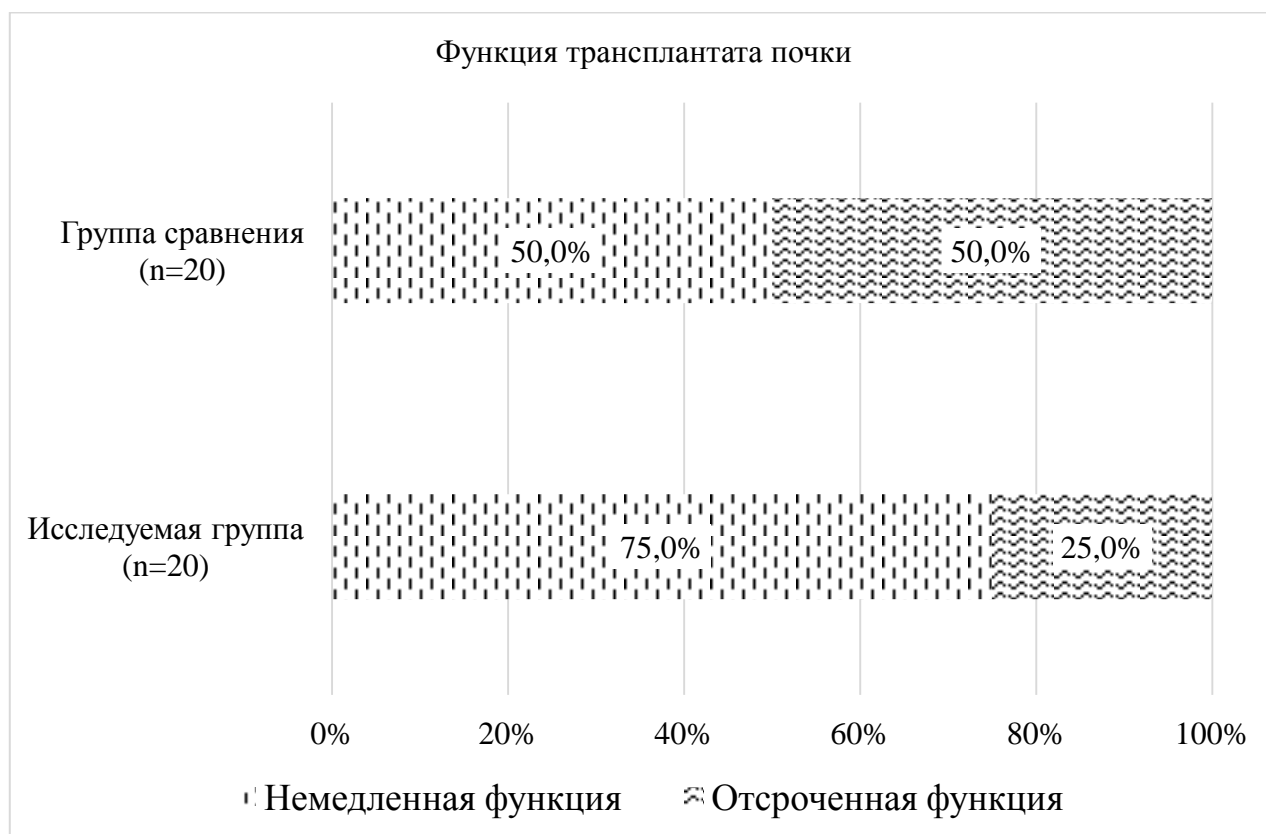


**Рисунок 9 – Иммуногистохимическое исследование «нулевых» биоптатов трансплантатов почек от донора П., 36 лет исследуемой группы. Отсутствие экспрессии ЕрСАМ во всех структурах ткани почки**

Таким образом, в соответствии с указанными функциями и вышеупомянутыми способами регуляции экспрессии ЕрСАМ, можно сделать вывод о том, что результаты выполненного иммуногистохимического исследования биоптатов трансплантатов почек демонстрируют эффективность применения разработанного протокола введения Тимоглобулина у ДСМ.

### Оценка результатов трансплантации почек Сравнение ранних результатов трансплантации почек

Для решения четвертой задачи исследования нами проведён анализ течения ранней фазы после трансплантации почек у пациентов исследуемой и группы сравнения. По данным 15 (75%) реципиентов почек, полученных от доноров исследуемой группы, наблюдалась немедленная функция трансплантата, в группе сравнения – у 10 (50%) реципиентов (рисунок 10, таблица 4).

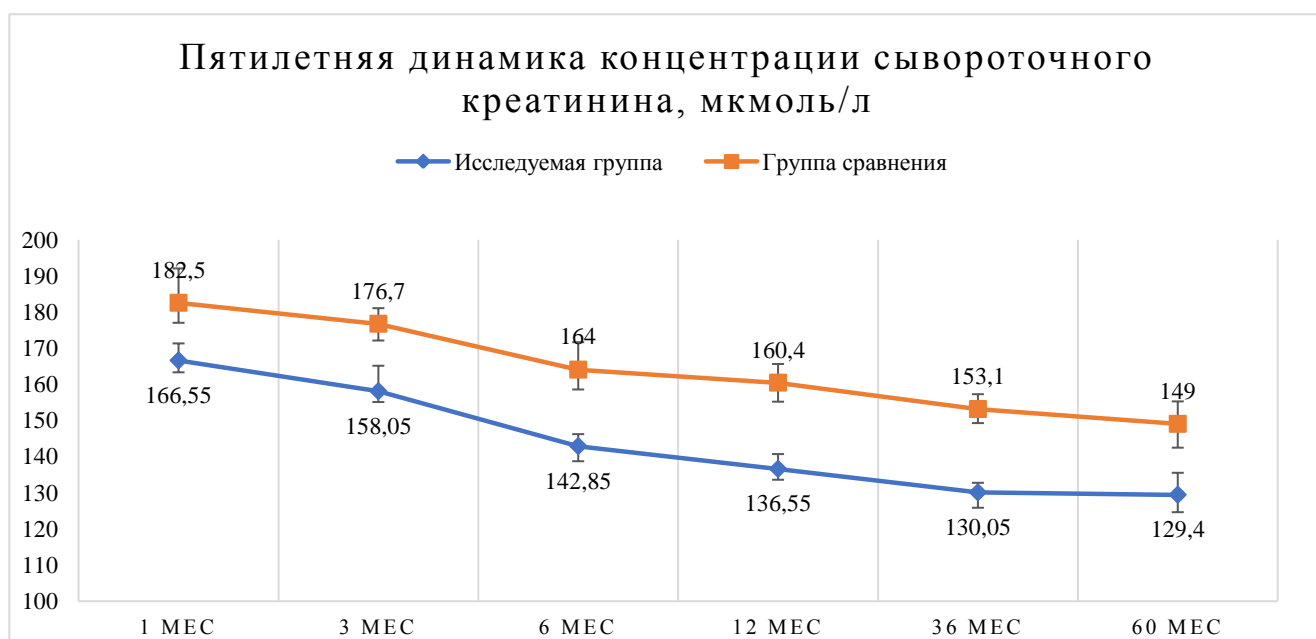


**Рисунок 10 – Немедленная функция трансплантатов почки у реципиентов в исследуемой группе и группе сравнения, % ( $p = 0,191$ )**

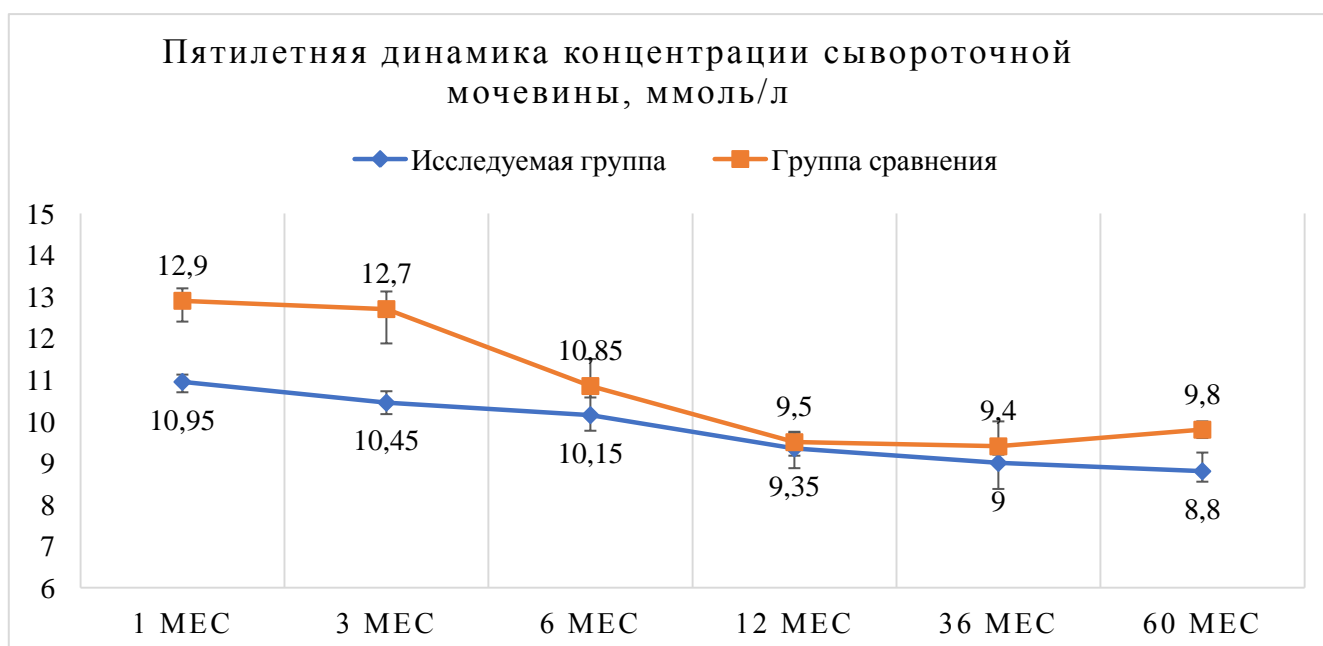
Таким образом, из полученных результатов следует, что очевидным преимуществом введения Тимоглобулина ДСМ до эксплантации является улучшение ранней функции трансплантата. Медианная концентрация сывороточного креатинина через 30 суток лет после трансплантации у реципиентов почек от доноров со смертью мозга с использованием поликлональных антител составила 167,4 мкмоль/л, тогда как в группе сравнения – 184,2 мкмоль/л. Также в раннем послеоперационном периоде отмечалась достоверно более низкая медианная концентрация сывороточной мочевины у реципиентов исследуемой группы – 10,9 ммоль/л, чем в группе сравнения (12,8 ммоль/л). Медианная СКФ в исследуемой группе составила 66,0 мл/мин, тогда как в группе сравнения 60,1 мл/мин.

## Сравнение отдалённых результатов трансплантации почек

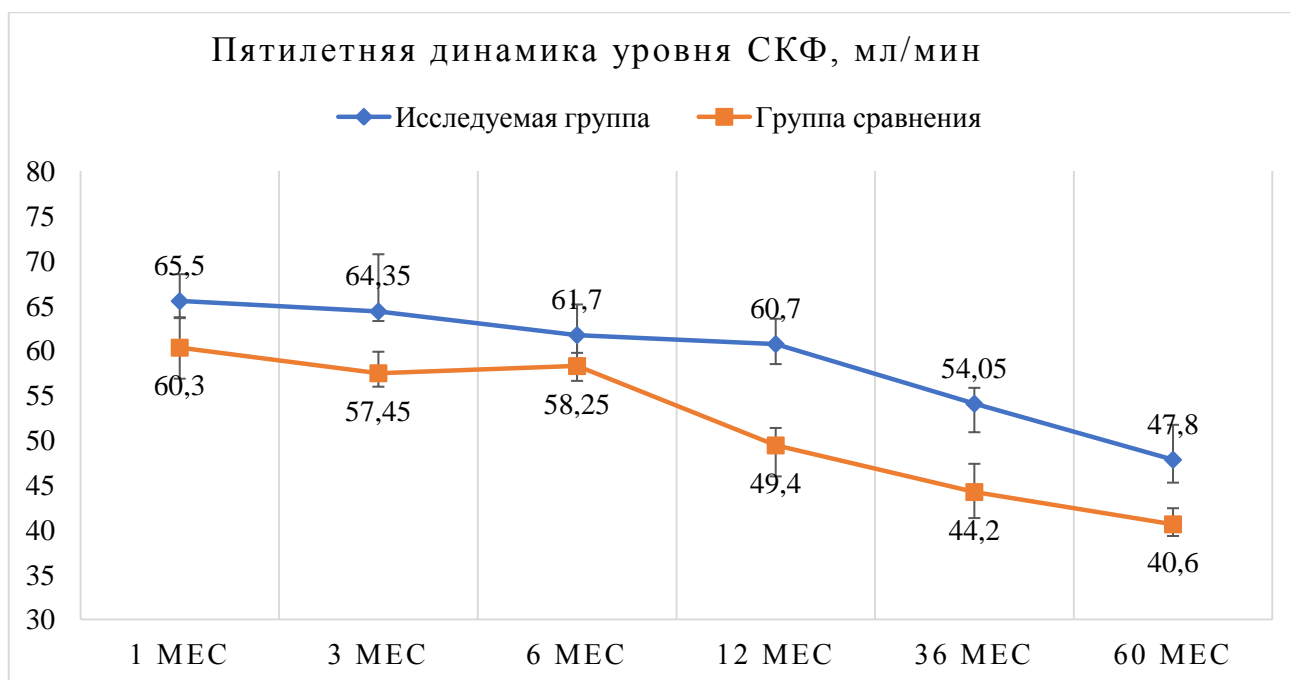
Для решения пятой задачи исследования нами проведён ретроспективный анализ течения поздней и отдалённой фазы после трансплантации почек у пациентов исследуемой группы и группы сравнения. На рисунках 11–13 представлены значения медианных концентраций лабораторных показателей (креатинина и мочевины сыворотки крови), а также динамика СКФ.



**Рисунок 11** – Значения медианных концентраций креатинина сыворотки крови с отметками межквартильного интервала, измеренные в точках, соответствующих 1, 3, 6, 12, 36, 60 мес. наблюдения за реципиентами исследуемой и контрольной групп, мкмоль/л ( $p < 0,05$ )



**Рисунок 12** – Значения медианных концентраций мочевины сыворотки крови с отметками межквартильного интервала, измеренные в точках, соответствующих 1, 3, 6, 12, 36, 60 месяцам наблюдения за реципиентами исследуемой и контрольной групп, ммоль/л ( $p > 0,05$ )



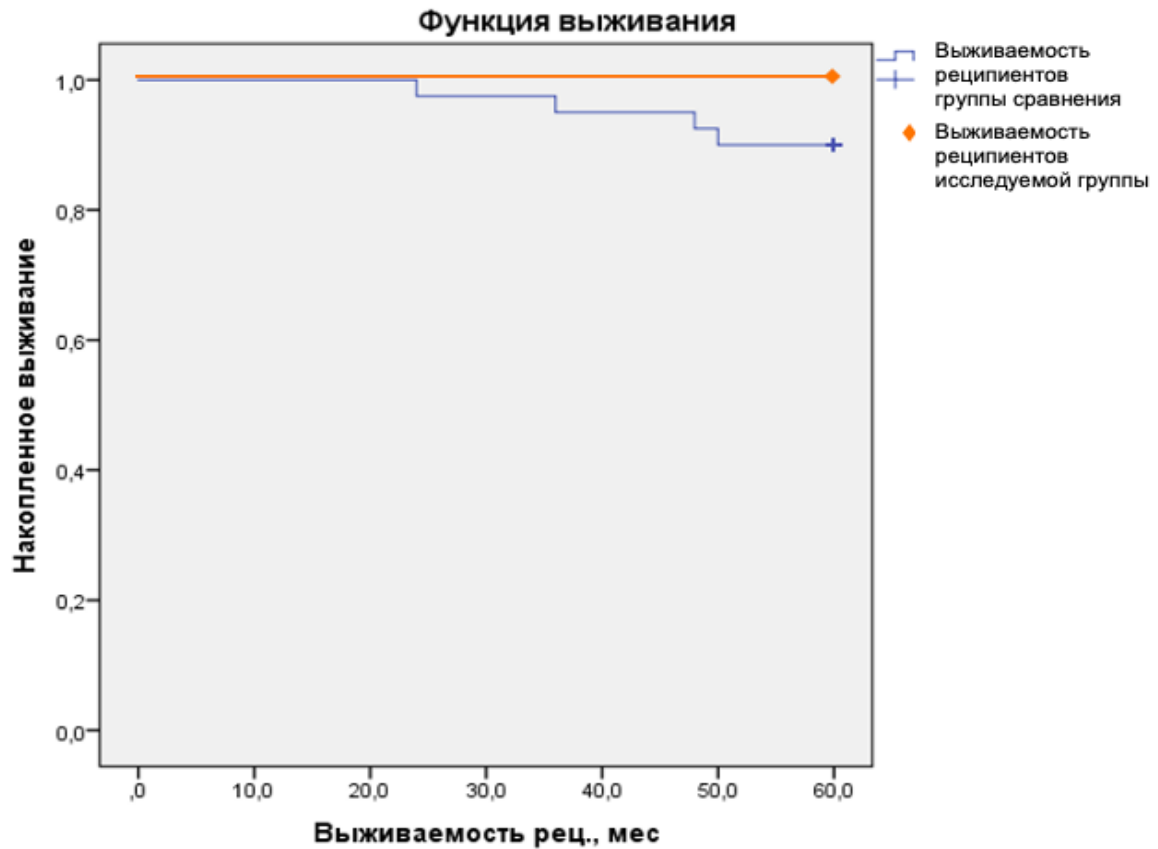
**Рисунок 13 – Значения медианных СКФ с отметками межквартильного интервала, измеренные в точках, соответствующих 1, 3, 6, 12, 36, 60 месяцам наблюдения за реципиентами исследуемой и контрольной групп, мл/мин ( $p > 0,05$ )**

Анализ полученных данных показал, что через 5 лет после трансплантации уровни сывороточного креатинина и мочевины были ниже, а скорость клубочковой фильтрации (СКФ) выше у реципиентов почек от доноров, которым вводился Тимоглобулин (рисунки 11 – 13, таблица 4).

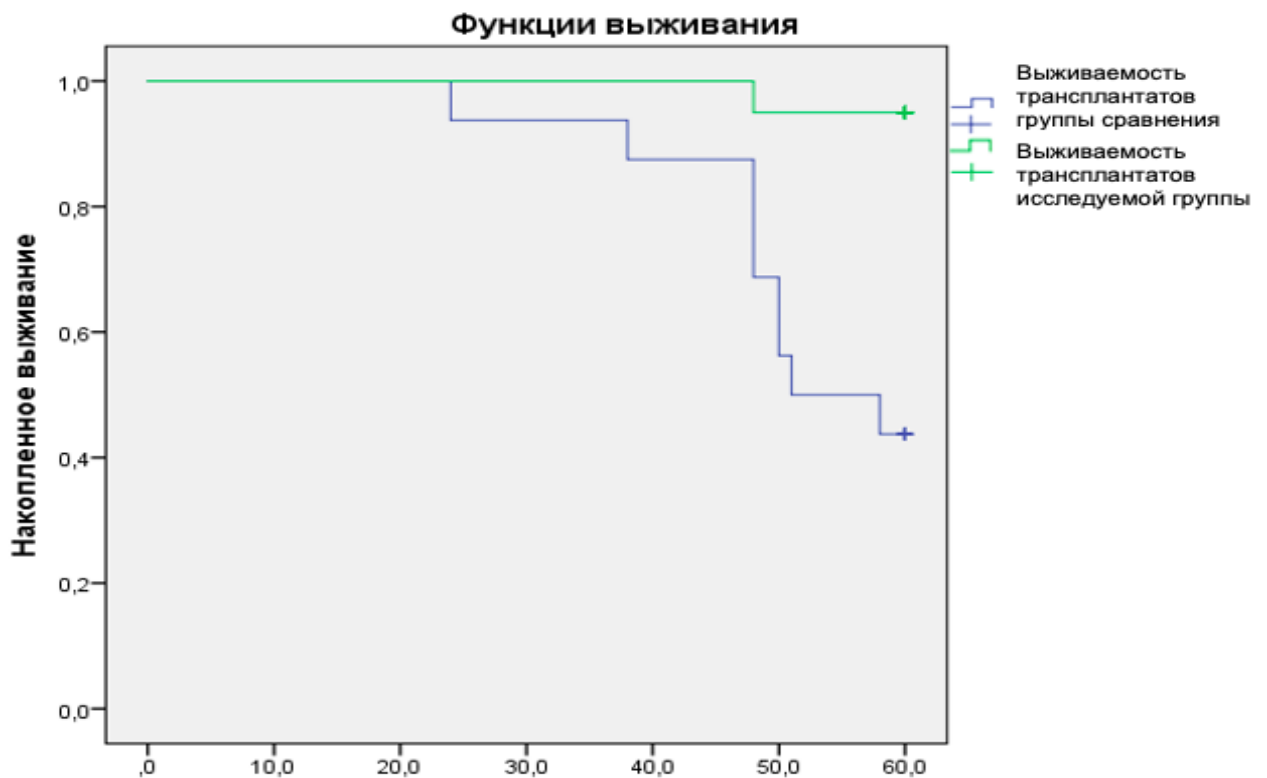
**Таблица 4 – Результаты трансплантаций почек ( $n=40$ )**

Показатель	Исследуемая группа ( $n=20$ )	Группа сравнения ( $n=20$ )	P
Немедленная функция трансплантата почки	15 (75%)	10 (50%)	0,191
<i>Лабораторные показатели, через 5 лет после трансплантации</i>			
Креатинин, мкмоль/мл	130,5 [120,25; 139,5]	150,1 [133,5; 165,75]	0,011
Мочевина, ммоль/мл	8,95 [8,425; 10,38]	9,75 [7,55; 11,01]	0,659
СКФ, мл/мин на $1,73 \text{ м}^2$	47,96[45,06;51,99]	41,08[37,1;48,33]	0,007

Кроме того, для оценки выживаемости реципиентов исследуемой группы и группы сравнения (рисунок 14) и трансплантатов почек исследуемой группы и группы сравнения (рисунок 15) были построены кривые Каплана-Мейера. Пятилетняя выживаемость реципиентов исследуемой группы составила 100% ( $n=20$ ), в отличие от 80% ( $n=16$ ) реципиентов группы сравнения. Пятилетняя выживаемость трансплантатов реципиентов исследуемой группы составила 95% ( $n=19$ ) (ПКАТ), в отличие от 35% ( $n=7$ ) реципиентов группы сравнения. Средняя оценка дожития составила  $57,95 \pm 1,103$  недель.



**Рисунок 14 – Оценка выживаемости реципиентов. 60-месячная выживаемость реципиентов исследуемой группы составила 100%**



**Рисунок 15 – Оценка выживаемости трансплантатов почек реципиентов исследуемой группы и группы сравнения**

Результаты исследования применения Тимоглобулина у ДСМ свидетельствуют о перспективности внедрения предложенного протокола в клинические рекомендации, что позволит улучшить качество получаемых трансплантатов, их пригодность к дальнейшей пересадке, увеличить срок функционирования трансплантата за счёт предупреждения развития ранней трансплантационной нефропатии, увеличить «донорский пул» за счет использования ДРК, минимизировать вероятность острого отторжения у реципиентов, уменьшить продолжительность пребывания в стационаре и, следовательно, снизить экономические затраты.

Разработанный протокол с применением поликлональных антител демонстрирует необходимость разработки аналогичного отечественного препарата, направленного на снижение лейкоцитарной агрессии в организме ДСМ при использовании криобиотических коллекций исследовательских трансплантационных биобанков.



## ВЫВОДЫ

1. Использование поликлональных антител у доноров со смертью мозга в дозировке 8 мг/кг массы тела в течение 6 часов приводит к выраженной лейкопении (снижению количества лейкоцитов в 11 раз), снижению уровня нейтрофилов в 9 раз, лимфоцитов в 16 раз, моноцитов в 3 раза и тромбоцитов в 2 раза в крови.

2. Создание в структуре отделений пересадки органов трансплантационных биобанков позволяет иметь постоянно действующую коллекцию биообразцов, связанных клиническими данными пар «донор-реципиент», обеспечивающих выполнение морфологической оценки в ретро- и проспективных исследованиях.

3. Морфологическая картина демонстрирует снижение экспрессии молекул клеточной адгезии на эндотелии капилляров клубочков трансплантатов почек от доноров со смертью мозга после применения поликлональных антител на доэксплантационном этапе.

4. При трансплантации почек от доноров со смертью мозга с применением поликлональных антител имеет место более высокая частота немедленной функции трансплантатов у реципиентов – 75% (15) случаев, по сравнению с 50% (10) реципиентов почек от доноров без применения разработанного протокола. Через 30 суток после пересадки показатели функции трансплантата лучше у реципиентов почек, полученных от доноров с использованием разработанного протокола – концентрация креатинина сыворотки крови достоверно ниже, чем у пациентов группы сравнения – 167,4 мкмоль/л, тогда как в группе сравнения – 184,2 мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), что указывает на более благоприятное течение послеоперационного периода.

5. Пятилетняя выживаемость трансплантатов составила 95% ( $n=19$ ) у реципиентов почек, полученных от доноров с применением поликлональных антител, в отличие от 35% ( $n=7$ ) трансплантатов от доноров без применения разработанного протокола. Уровни креатинина сыворотки крови ниже у реципиентов почек, полученных от доноров с применением поликлональных антител: медиана концентрации креатинина сыворотки крови через 5 лет после трансплантации – 130,5 мкмоль/л по сравнению с 160,5 мкмоль/л у реципиентов почек от доноров без применения разработанного протокола ( $p < 0,05$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение поликлональных антител у доноров со смертью мозга в дозировке 8 мг/кг массы тела в течение 6 часов обеспечивает целенаправленную элиминацию лейкоцитов, как фактора развития ишемически-реперфузионного повреждения трансплантатов почек.

2. Необходимо сохранять биообразцы от доноров и реципиентов почек для будущих исследований, для чего целесообразно формирование трансплантационных биобанков на базе отделений трансплантации.

3. Доэксплантационное применение поликлональных антител у посмертных доноров позволяет улучшать качество получаемых трансплантатов, увеличивать срок функционирования трансплантата, и тем самым в совокупности уменьшить продолжительность пребывания реципиентов в стационаре и снизить экономические расходы.

**СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Создание исследовательского многофункционального биобанка / Резник О. Н., Кузьмин Д. О., Ананьев А. Н. и др. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. 18. – №. S. – С. 232-232.
2. Биобанки как одна из основ развития биомедицины: современное состояние и перспективы / Резник О. Н., Кузьмин Д. О., Резник А. О. / Молекулярная биология. – 2017. – Т. 51. – №. 5. – С. 761-771.
3. Биобанки – неоценимый ресурс трансплантации. История, современное состояние, перспективы / Резник О. Н., Кузьмин Д. О., Скворцов А. Е., Резник А. О. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 18. – №. 4. – С. 123-132.
4. Опыт применения нового протокола коррекции ишемически-реперфузионной травмы у доноров со смертью головного мозга / Багненко С. Ф., Резник О. Н., Кузьмин Д. О. и др. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. – Т. 19. – №. S. – С. 222-222.
5. Биобанк для изучения вопросов ишемически-реперфузионного повреждения / Кузьмин Д. О. Скворцов А. Е., Кутенков А. А., Резник О. Н. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – №. S. – С. 199-199.
6. Эффективность применения поликлональных антител у доноров со смертью мозга при пересадке почек / Кузьмин Д. О., Ананьев А.Н., Резник О. Н. и др. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22. – №. S. – С. 119-119.
7. Применение поликлональных антител у доноров со смертью мозга при пересадке почек / Кузьмин Д. О., Мануковский В. А., Багненко С. Ф., Резник О. Н. и др. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24. – №. 4. – С. 124-134.
8. Пятилетний опыт применения поликлональных антител у доноров со смертью мозга при пересадке почек: протокол, результаты и перспективы / Кузьмин Д. О., Ананьев А. Н., Резник О. Н. и др. / Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24. – С. 111-112.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГМ – аневризма сосудов головного мозга
- АТГ – антитимоцитарный глобулин
- АДПП – аутосомно-доминантный поликистоз почек
- ГБ III ст. – гипертоническая болезнь III стадии
- ДРК – донор с расширенными критериями
- ДСМ – донор со смертью мозга
- ИРП – ишемически-реперфузионное повреждение
- ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
- ОФТ – остrochenная функция трансплантата
- ПКАТ – поликлональные антитела
- СКФ – скорость клубочковой фильтрации
- СПбКЦОД – Санкт-Петербургский координационный центр органного донорства
- ХГН – хронический гломерулонефрит
- ЧМТ – черепно-мозговая травма
- ЕpСАМ – Epithelial cell adhesion molecule (молекула клеточной адгезии эпителия)